

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

**Methodische Probleme
der RES-Blockade, deren Nachweis
sowie deren Einfluß auf das
Wachstum des Yoshida-Sarkoms
der Ratte
bei haematogener Aussaat.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Peter Frühmorgen
aus München

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

**Methodische Probleme
der RES-Blockade, deren Nachweis
sowie deren Einfluß auf das
Wachstum des Yoshida-Sarkoms
der Ratte
bei haematogener Aussaat.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Peter Fröhmmorgen
aus München

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg/L. am 19.2.1968
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

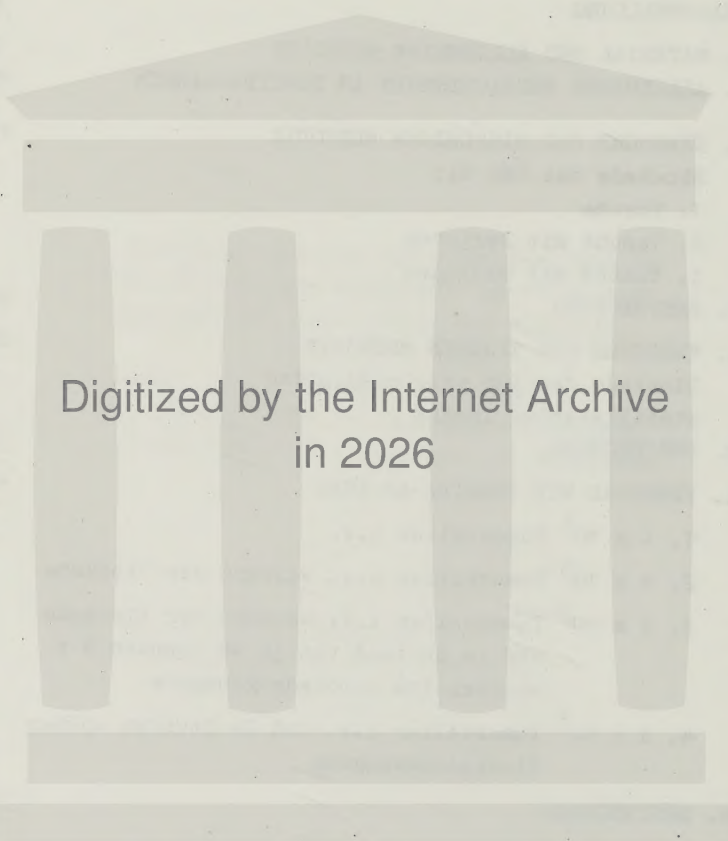
Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert

Referent: Prof. Dr. med. H.J. Streicher

Correferent: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	FRAGESTELLUNG	8
III.	A. MATERIAL UND ALLGEMEINE METHODIK	9
	B. ALLGEMEINE BEOBACHTUNGEN AM YOSHIDA-SARKOM	13
IV.	A. VERSUCHE ZUR BISHERIGEN METHODIK	15
	Blockade des RES mit	
	1. Tusche	
	2. Tusche mit Periston	
	3. Tusche mit Macrodex	
	B. BESPRECHUNG	24
V.	A. VERSUCHE ZUR EIGENEN METHODIK	28
	Blockade des RES mit in Gelatine	
	stabilisierter Tusche	
	B. BESPRECHUNG	41
VI.	A. VERSUCHE MIT YOSHIDA-ASCITES	45
	1. 1×10^5 Tumorzellen i.v.	
	2. 1×10^5 Tumorzellen i.v. während der Blockade	
	3. 1×10^5 Tumorzellen i.v. während der Blockade	
	und im Abstand von je 48 Stunden 3 x	
	wiederholte Blockadeagensgabe	
	4. 1×10^5 Tumorzellen i.v. und 24 Stunden später	
	Blockadeagensgabe	
	B. BESPRECHUNG	53
VII.	DISKUSSION	54
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	71
IX.	LITERATUR	72



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153508_0128

I. EINLEITUNG

Begriff und Definition des retikulo-endothelialen Systems stammen von ASCHOFF (1924). Schon vor ihm sah METSCHNIKOFF neben den Mikrophagen in den Makrophagen jene Zellgruppen, welche durch Phagocytose und parenterale Verdauung entscheidend bei der Infektabwehr mitwirken. Metschnikoffs Makrophagentheorie wurde von Ribbert und Ranvier (1881-1891) ergänzt, bis schließlich Untersuchungen von Aschoff zur Schaffung eines ganzen Makrophagensystems führten, welches trotz vielfacher Kritik bis heute als "retikulo-endotheliales System" (RES) Gültigkeit behalten hat.

Wesentlich ist, daß das RES einen funktionellen Begriff eines über den ganzen Organismus verteilten, biologisch äußerst aktiven Zellsystems verschiedener Zellelemente darstellt, welchem besondere Funktionen im Stoffwechsel und in der Krankheitsabwehr zukommen.

Zum RES gehören die Retikulumzellen und Sinusendothelzellen in Milz, Lymphknoten und Knochenmark sowie im übrigen lymphatischen Gewebe und die v. Kupffer'schen Sternzellen der Leberkapillaren als Reticuloendothel im engeren Sinne, sowie die Monocyten des strömenden Blutes und die Histiocyten als Reticuloendothel im weiteren Sinne.

Für SIEGMUND (1927) liegt allen diesen Einteilungen noch eine zu strenge, an morphologische Strukturen gebundene Definition zu Grunde, welche die fließende Struktur dieses rein funktionellen Begriffes zu wenig berücksichtigt. So kommt er zu dem Begriff des "aktiven Mesenchyms" und versteht darunter, wie auch FROMME (1960), die gesamte differenzierungsfähige mesenchymale Grundsubstanz, wobei die jeweilige funktionelle Beanspruchung den Grad der Ausdehnung dieses Speicherzellensystems bestimmt.

Nach der heutigen Auffassung stellt der Funktionszustand des RES einen wesentlichen Faktor bei der Abwehr exogener und endogener Reize dar. Fremdkörper mikroskopischer und submikroskopischer Partikelgröße werden von ihm aus dem Blut

eliminiert, gespeichert oder abgebaut.

Da die Histiocyten, besonders bei einer Reizung des RES, verstärkt in Erscheinung treten und oft nicht ganz korrekt alle Gefäßendothelien mit einbezogen werden, wird immer häufiger der Begriff des "Retikulo-Histiocytären Systems" (RHS) gebraucht (CAZAL, FERRATA-Schule, ROHR, GROSS und BOCK, ZSCHIESCHE u. Mitarb.). So schließt auch FRESEN in seiner Definition des RES im engeren Sinne echte Endothelien aus und sieht in ihm einen einheitlichen reticulärsyncytialen fibrillären Zellverband.

Möglichkeiten und Nachweise einer RES-Blockade werden immer wieder angegeben und diskutiert, wobei bis zum heutigen Tag eine Vielzahl von Auffassungen vertreten werden. Hauptgrund ist wohl, daß jeweils unterschiedliche Kriterien zur Beurteilung einer eingetretenen Blockade Verwendung finden.

Das RES ist, wie oben gezeigt, ein funktioneller Begriff und es ist somit zu fordern, daß lediglich funktionelle Einschränkungen bzw. die temporäre Aufhebung bestimmter Funktionen zur Beweisführung herangezogen werden. Der alleinige histologische Nachweis einer Speicherung (z.B. i.v. gegebener Farbstoffe) ist daher unzureichend. Hinzu kommt, daß das RES in seiner Gesamtheit ein außerordentlich flexibles und funktionell hoch differenziertes System (Speicherung, Phagocytose, Immunkörperbildung, Blutbildung und Blutmauserung) darstellt, so daß bei einer Blockade mit Hilfe eines bestimmten Agens keineswegs alle Funktionen gleichzeitig zum Erliegen kommen müssen. Diese Erkenntnis und die Tatsache, daß die Regenerationskraft der RES-Zellen, zumal unter Belastung, außerordentlich groß ist, dürfte einer totalen Blockade entgegenstehen, so daß es besser scheint, von einer dosis- und zeitabhängigen Funktionseinschränkung bestimmter Funktionen des RES zu sprechen.

Um bestimmte Funktionen des RES näher studieren zu können, ist es wichtig geeignete Substanzen und Methoden zu haben, nach deren Applikation eine meßbare Funktionsbeeinträchtigung

stattfindet. Als das RES in depressiver Form beeinflussende Substanzen werden in der Literatur angegeben:

Farbstoffe wie Trypanblau, Kongorot, chinesische Tusche (KRAUL), Tusche allein (JELIN u. Mitarb., HALPERN u. Mitarb., BIOZZI u. Mitarb. 1953 u. 1957, BENACERRAF u. Mitarb. 1957, MURRAY 1963a, EBERHARDT) und in Gelatine stabilisiert (MURRAY 1963a, KOENIG u. Mitarb., ZSCHIESCHE u. Mitarb.), kolloidale Flüssigkeiten wie Macrodex, Periston und Gelatine (MURRAY 1963a, KOENIG, WAGNER u. Mitarb., STREICHER u. Mitarb. 1965, BARFUSS u. EICHLER, FRIMMER, BEINKE), nach Vorbehandlung der Empfängertiere mit hohen Dosen alkylierender Substanzen (STREICHER u. Mitarb. 1965), kolloidalem Eisen (GABRIELI u. HOLMGREN), Chromphosphat (MURRAY 1963a), sowie Gold in Kombination mit Chromphosphat (MURRAY 1963a), Albumin (WAGNER u. Mitarb.) und Thorotrast, welches in kleinen Dosen stimulierend (BAILLIF) und erst bei größeren Dosen eine Aktivitätsminderung (BARROW u. Mitarb., MARTIN u. Mitarb., DERBY u. ROGERS) bewirkt.

In vielen dieser Methoden wird Gelatine als stabilisierendes Agens gebraucht. Es wird selten von eindeutigen "Blockade"-Erfolgen berichtet bei alleiniger Injektion einzelner Substanzen ohne die Hinzugabe eines suspendierenden Agens. Somit scheint auch der Gelatine als suspendierender Substanz eine aktive Rolle beim Blockademechanismus zuzukommen. (KOENIG).

Zum Nachweis einer Funktionsminderung des RES können in Form von Funktionsproben verschiedene Methoden herangezogen werden:

- 1.) Clearance-Bestimmungen irgendeiner Suspension von Partikeln, vorausgesetzt, daß sie homogen, stabil und nicht toxisch ist, wobei die einzelnen Substanzen sich in ihrem Phagocytose-Index unterscheiden (BIOZZI u. Mitarb. 1953); so die Clearance-Bestimmung von i.v. injiziertem kolloidalen Radiogold (Au^{198}) (MURRAY 1963a, KOENIG u. Mitarb.) oder i.v. injizierten Tuschepartikeln (HALPERN u. Mitarb., BIOZZI u. Mitarb. 1953).

- 2.) Hemmung der Antikörperbildung nach Antigengabe (JELIN u. Mitarb.) oder
- 3.) Messung der Phagocytose-Aktivität und Bestimmung der relativen Leber- und Milzgewichte (BIOZZI u. HALPERN, BENACERRAF u. BIOZZI), sowie
- 4.) der histologische Befund von Zellen des RES nach Applikation zweier verschiedener Farbstoffe in zeitlichem Abstand (Tusche, Trypanblau, Trypanrot, Lithiumkarmin), wobei als "Blockade" gewertet wird, wenn der zweite Farbstoff von den Zellen des RES nicht mehr aufgenommen werden kann (BAGINSKI).

In neuerer Zeit sind namentlich aus dem anglo-amerikanischen Schrifttum umfangreiche Arbeiten über den Mechanismus der "RES-Blockade" bekannt geworden.

So berichtet u.a. MURRAY (1963a) über Clearance-Versuche an Ratten mit Radiogold eine Stunde nach der Injektion verschiedenartiger colloidalen Substanzen mit und ohne die Hinzugabe stabilisierender Agentien. Mit dieser Methode konnte er verlängerte Halbwertszeiten für in Gelatine stabilisiertes radioaktives colloidales Gold und radioaktives Chromphosphat 60 Minuten nach der Gabe von Gelatine, Kohle stabilisiert in Dextran und PVP sowie Gold und Chromphosphat feststellen.

Mit derselben Methode stellte KOENIG 1965 an Kaninchen bei Verwendung von Kohle in Gelatine oder reiner Gelatine als blockierenden Substanzen eine deutliche Verlangsamung der Phagocytoserate fest, nicht hingegen bei Gebrauch von Thorotrast, Latex-Partikeln und Kohle in Salzlösung.

Wie wir wissen, spielen die phagocytierenden Zellen des RES auch bei der Vernichtung von Bakterien, die in die Blutbahn gelangen, eine größere Rolle (ROGERS 1960). Daß bei dieser Teilleistung des RES im Rahmen der Infektabwehr (Elimination von Bakterien aus dem Kreislauf, Immunkörperbildung) ganz ähnliche Gesetze gelten wie bei der Phagocytose kolloidaler Substanzen, konnte in mehreren Versuchen wahrscheinlich gemacht werden, da die Clearance-Kurven verschiedener Autoren

einander ähneln (KOENIG, ROGERS u. MELLY, Rogers 1956). Ein kausaler Zusammenhang zwischen Phagocytoseaktivität und Widerstandsfähigkeit gegenüber Infektionen konnte jedoch bisher nicht bewiesen werden, wenngleich erstere sicher als mitbestimmender Faktor in die Resistenzlage eingeht (BOEHME und DUBOS).

Retikulo-endotheliales System und Tumorstadium:

Nach zahlreichen experimentellen und klinischen Beobachtungen darf angenommen werden, daß die Autonomie des Tumorstadiums keine absolute ist, sondern der tierische und menschliche Organismus sich bis zu einem gewissen Grade aktiv mit den Tumorzellen auseinandersetzt, sei es in der Entwicklungsphase des Tumors oder bei der Entstehung von Metastasen. In Tierversuchen mit verschiedenen Impftumoren läßt sich immer wieder zeigen, was auch aus der Klinik menschlicher Tumoren und deren Metastasenlokalisation ersichtlich ist; eine jede Tumortart scheint ein bestimmtes Metastasenmuster in sich zu tragen, d.h. jeweils in bestimmten Organen zu metastasieren, andere hingegen regelmäßig frei zu lassen (Organprädisposition). So ließ sich bei gleichen Tumorzellgrößen und Injektionsstellen beim Yoshida-Sarkom niemals eine Metastase in Gehirn, Muskulatur, Milz oder Harnblase finden, beim Walker-Tumor jedoch stets und ausschließlich nur Lungenmetastasen (SOOST).

Die Entstehung von Tumorzellen im gesunden Organismus ist sicher kein seltenes Geschehen (DRUCKREY), so daß die Entwicklung eines Tumors die Ausnahme darstellt. Es gibt viele Hinweise dafür, daß der Organismus über lange Zeit hin nicht nur einen Stillstand in der Tumorentwicklung (Spätmetastasen) bewirken kann (KRAUL, BORST u. HOEPKE), bis eine mögliche Resistenzschwäche eintritt und zum klinisch manifesten Krebs führt, sondern auch in der Lage ist, bereits vorhandene Tumorzellen zu vernichten (SCHMIDT, DOMAGK, DRUCKREY 1949, HAMPERL, EULER 1951, FROMME 1952, MOORE, SCHMÄHL 1964), ja sogar solide, histologisch gesicherte maligne Tumoren zum

Wachstumsstillstand oder gar zur Rückbildung veranlassen kann (DERRA, EVERSON, BAKER). Zum anderen ist von den Impftumoren (KARRER, SCHMÄHL 1955, WITTE, JUNKMANN, DRUCKREY u. Mitarb. (1949), LEDOUX, KLEIN, G.u.E. KLEIN, GAETANI u. Mitarb.) bekannt, daß eine erfolgreiche Transplantation erst von einer bestimmten Tumorzellzahl ("kritische Mindestzellzahl") an möglich wird. Diese wiederum zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Art der Transplantation. So ist beim Yoshida-Sarkom die kritische Mindestzellzahl bei s.c. Überimpfung größer als bei i.p. und bei i.v. wiederum größer als bei s.c..

Verschiedene Untersuchungen machen es sehr wahrscheinlich, daß auch der Organismus aktiv in das Tumorstadium eingreift, da durch Schädigung der retikulo-endothelialen Elemente der Schwellenwert herabgesetzt werden kann. Welche Faktoren hierbei eine Rolle spielen, ist bis heute noch nicht eindeutig zu sagen, scheint doch vielfach ein multifaktorielles Geschehen zu Grunde zu liegen. KARRER, HACKMANN und SCHMÄHL (1964) berichten über verschiedene Substanzen, welche, entsprechend dosiert, nachweislich zu einer Resistenzschwäche führen und dadurch das Tumorstadium fördern, z.B. Cortison, Vorbehandlung mit hochdosierter Röntgen-Ganzbestrahlung (NEMETH u. Mitarb., KRISCHKE) oder radioaktiven Isotopen, endokrine Faktoren, Teerbehandlung, äußere Einflüsse, Hemmung der Fibrinolyse sowie andere chemische Noxen, welche das RES schädigen, wie alkylierende Präparate vor der Transplantation in kleinen Dosen gegeben.

Schon BORST gab biochemischen Momenten und nicht mechanischen Faktoren den Vorrang, indem er beim Metastasierungsprozeß den Stoffwechselvorgängen eine besondere Bedeutung zuschrieb.

Wie KRAUL berichtet, führt eine Stimulierung des "aktiven Mesenchyms" zur verstärkten und die i.v. Applikation von Tusche oder Trypanblaulösung zur abgeschwächten Kanzerolyse. Kraul selbst konnte bei Mäuseversuchen feststellen, daß die Tiere, bei denen die Funktionsfähigkeit des RES zuvor mit Trypanblau eingeschränkt worden war, zu einem bestimmten Zeitpunkt signifikant größere und schwerere Tumoren als die nicht blockierten

Kontrollgruppen entwickelt hatten.

Auf die wesentliche Rolle des RES, insbesondere der lymphatischen Organe (Milz, Lymphknoten, Thymus) im Rahmen der Tumorbabwehr weisen HOEPKE, KRAUL, SZABADI und FROMME (1947, 1949) hin. Fromme (1960) selbst sieht in einer Allgemeinerkrankung der im Mesenchym liegenden Abwehr und einer frühzeitigen Alterung des Mesenchyms als Vorkrankheit, wesentliche Ursachen der Karzinomentstehung ("Mesenchymtheorie des Karzinoms").

Da eine direkte Vernichtung ungeschädigter Tumorzellen durch die Phagocytosefähigkeit des RES jedoch nicht möglich ist (Lettre), kommen als tumorzellzerstörende bzw. wachstumshindernde Kräfte im Rahmen der Metastasierung eher fehlende Substrate und Abwehrmechanismen des Körpers, Milieufaktoren einzelner Organe und organspezifische Abwehrfaktoren in Frage, da, wie oben schon erwähnt, bei deren Schädigung eine gesteigerte Metastasierung beobachtet werden kann (SCHMÄHL 1960, 1964; SCHMÄHL u. Mitarb. 1955, 1958, 1965; DRUCKREY u. SCHMÄHL). Für die berechtigte Annahme solcher Faktoren gibt es weitere Beweise. Glaubte man anfangs die jeweils beobachtete Organprädisposition, in Form der einen Tumor kennzeichnenden Metastasenmuster, allein auf Kreislauf-mechanischem Wege (WALTHER) erklären zu können, so ist diese "mechanische Metastasierungstheorie" auf Grund neuerer Befunde an Impftumoren von LIGDAS, SOOST und SCHMÄHL (1961) für die haematogene Streuung nicht mehr ausreichend. Vielmehr scheinen die biologischen Eigenschaften der Organe, besonders des Mesenchyms, eine wesentlichere Rolle zu spielen. Gegen die mechanische Metastasierungstheorie spricht u.a., daß Soost noch 90 Minuten nach der Injektion von Tumorzellen diese in nicht geringer Zahl im strömenden Blut nachweisen konnte, was bedeutet, daß die Tumorzellen das Primärfilter passiert haben müssen. Darüber hinaus haben Organbreittransplantationen nach intravenöser Transplantation von Tumorzellen gezeigt, daß selbst in Organen, welche erfahrungsgemäß nie von Metastasen dieses Tumors befallen werden, latente Tumorzellen aufzufinden sind und sich bei erneuter Überimpfung des Organbreies ein Tumororgan erzielen läßt

(SOOST, SCHMÄHL 1964, KÜHNE, MARQUARDT).

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb u.a. eine eventuell bestehende Wechselwirkung zwischen dem Funktionszustand der retikulo-endothelialen Elemente und dem Tumorstadium bei blockierten und nicht blockierten Ratten näher untersucht werden. Dies ist im Bezug auf die Metastasen deshalb um so wichtiger, erliegen die Patienten in den meisten Fällen doch nicht dem Primärtumor, der chirurgischer und radiologischer Therapie oft gut zugänglich ist, sondern ihren Metastasen.

II. FRAGESTELLUNG

Körpereigene Abwehrkräfte scheinen nach dem bisher Gesagten eine nicht geringe Rolle in der Initialphase und besonders in der Entwicklungsphase von Tumoren und deren Metastasen zu spielen. Ziel dieser Arbeit war es deshalb zu untersuchen, ob und in welcher Form sich eine "Blockade" des RES und damit eine Resistenzschwäche auf die Metastasierung eines Impftumors auswirkt.

Wie in Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe an Ratten wahrscheinlich gemacht werden konnte, läßt sich mit hohen Tuschedosen (2 ml einer 5 %igen Tuschelösung) eine zeitlich begrenzte Reaktionsblockade erzielen (EBERHARDT). Doch ließen orientierende Vorversuche zu dieser Arbeit den Schluß zu, daß allein mit Tusche in physiologischer NaCl-Lösung keine "Blockade" zu erreichen ist, und weitere Versuche zeigten, daß es sich bei den mit dieser Methodik erzielten Reaktionsbildern um hoch toxische Effekte handelt und sie somit für die geplanten Versuche ungeeignet ist.

Wie aus Arbeiten von KOENIG u. Mitarb., sowie von BURRI u. ALLGÖWER hervorgeht, läßt sich u.a. mit in Gelatine stabili-
sierter Tuschelösung eine Blockade erzielen. Da der Nachweis jedoch nur zeitlich begrenzt und durch mehr oder weniger aufwendige Untersuchungen erfolgte, soll hier versucht werden, die Funktionseinschränkung mit möglichst einfacher Methodik

darzustellen. Darüber hinaus schien es wünschenswert, die Funktionseinschränkung in ihrem zeitlichen und graduellen Ablauf sichtbar zu machen. Um dies zu erreichen, sollen in dieser Arbeit die Reaktionen des weißen Blutbildes auf einen Reiz hin als Maß der RES-"Blockade" dienen. Die Reaktionen des weißen Blutbildes, in Form einer Leukocytose, unterliegen einem vegetativen Regelmechanismus und setzen u.a. eine normale Funktion des retikulo-endothelialen Systems von Leber, Milz und Knochenmark voraus (STREICHER, BEER, LINKE u. Mitarb., KRESTOW), so daß eine verminderte oder gar aufgehobene Reaktion im Rahmen dieser Versuchsanordnung als Kriterium einer Funktionseinschränkung des RES gelten kann.

Außerdem sollte der Einfluß dieser so erzeugten "Blockade" auf das Wachstum einer haematogenen Aussaat von Yoshida-Sarkomzellen untersucht werden.

III. A MATERIAL UND ALLGEMEINE METHODIK

In den Versuchen wurden junge weibliche Albinoratten mit einem Gewicht von 80 - 120 g genommen. Die Nahrung bestand aus Altromin[®]-Mischfutter und Wasser.

Insgesamt wurden die Versuche an 210 Ratten in 25 Einzelversuchen durchgeführt, wobei die einzelnen Gruppen bei den "Blockadeversuchen" aus 5 Tieren und bei den Tumor-Transplantationsversuchen aus 7 Tieren bestanden, die gruppenweise in getrennten Käfigen gehalten wurden. In der Gesamtzahl sind 74 Ratten enthalten, die zur Zucht der Tumorzellen (i.p. und s.c.) benötigt wurden.

Wir verwendeten eine Spezialtuschelösung C 11 - 1431a der Fa. G. Wagner, Hannover. Diese Rußdispersion enthält 100 mg Kohlenstoff pro ml (10 %) mit einer Teilchengröße von 200 - 300 Å, suspendiert in einer Lösung von teilweise hydrolysierter Gelatine (Fischleim 4,3 %) und 1 % Carbolsäure als

Konservierungsmittel.

Für die reinen Tuscheversuche wurde sie 1:1 mit physiologischer Na Cl-Lsg. verdünnt und somit eine 5 %ige Tuschelösung erhalten.

Blockadesubstanz:

Für die weiteren Blockadeversuche wurde eine Lösung folgender Zusammensetzung hergestellt: 1 Teil Tusche (10 %) und 9 Teile physiologische Kochsalzlösung werden bei 108° C 30 Minuten lang autoklaviert und sodann im Verhältnis 1:1 mit Plasmagel stabilisiert.

Zur Beurteilung einer Funktionseinschränkung des RES wurde die Knochenmarksfunktionsprüfung nach MOESCHLIN herangezogen, welche eine Funktionsprüfung des leukopoetischen Knochenmarkanteils darstellt. Als Reiz dient bei der von Moeschlin standardisierten Methode Pyrifer, eine Suspension apathogener Stämme der Coli-Gruppe mit 0,5 % Phenol. Gespritzt wurden 2,5 E Pyrifer in die Schwanzvene, in welche auch alle anderen intravenösen Injektionen gegeben wurden; die Leukocytenzahlen wurden unmittelbar vor, sowie 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach der Injektion in der Thomazählkammer ausgezählt. Während des Versuches blieben die Tiere nüchtern. Über die normale Reaktion gibt Versuch 9 Aufschluß.

Die Blutentnahme erfolgte nach Kupieren der Schwanzspitze und Verwerfen des ersten Tropfens mit anschließender Ligatur zur Blutstillung.

Da bei den Versuchen mit reiner 5 %iger Tuschelösung diese bereits über lange Zeit als kräftiger Reiz ohne folgende Leukopenie wirkte, wurde bei diesen Versuchen in den meisten Fällen auf einen zusätzlichen Pyriferreiz verzichtet. (Auf die Ähnlichkeit der Leukocytosen nach Tusche- bzw. Pyrifergabe hat schon BORKENSTEIN hingewiesen).

Der O-Wert stellt bei allen Versuchen die Leukocytenzahl unmittelbar vor der ersten intravenösen Injektion dar.

Sofort nach der Tötung bzw. dem spontanen Tod der Ratten wurden bei einigen Versuchen die Frischgewichte von Leber und Milz

auf 0,001 g Genauigkeit festgestellt, da sie u.a. über eine eventuelle Vermehrung der reticulären Elemente in diesen Organen Aufschluß geben.

Bei einer unbehandelten Kontrollgruppe konnte ein durchschnittliches Frischgewicht der Leber von 4,793 g und der Milz von 0,294 g ermittelt werden.

Dazu erfolgte bei einigen Versuchsgruppen in 3tägigem Intervall eine Bestimmung des Körpergewichtes der Ratten auf einer Waage mit ± 2 g Genauigkeit.

Als Impftumor wurde die Ascites-Form des Yoshida-Sarkoms der Ratte gewählt, da in dieser Suspension die Zellen isoliert vorliegen und somit eine genaue Zählung und Dosierung bei Transplantationen möglich wird (Bild 1). Über Ursprung sowie cytologische und biochemische Charakteristika des Yoshida-Sarkoms betreffende Fragen muß auf ausführliche Beschreibungen verwiesen werden (LETTRE, EULER u. Mitarb. 1954). Die Behandlung der Tumorzellen erfolgte zu jeder Zeit unter streng sterilen Kautelen.

Zur Herstellung und Überimpfung einer definierten Tumorzellzahl wurden etwa 4,0 ml rahmiger und unblutiger Ascites von einem entsprechende Zeit zuvor beimpften Tier entnommen und in einem Schälchen mit 3,0 ml Ringer-Lösung + 200 mg % Glukose und 0,2 ml Liquemin aufgefangen. Nach Zählung der Tumorzellen, ähnlich der Leukocytenzählung in der Thoma-Kammer, erfolgte die Verdünnung des Ascites auf die gewünschte Zellzahl von $1 \times 10^5/\text{cm}^3$ mit Verdünnungsflüssigkeit (Ringer-Lsg. + 200 mg % Glukose). Die dabei eintretende Verdünnung war so hochgradig, daß die anfangs zugegebene Liquemindosis vernachlässigt werden kann.

Die für unsere Versuche nötige haematogene Aussaat der Tumorzellen wurde durch Injektion in eine Schwanzvene erreicht. Eine möglichst große Verdünnung des nativen Ascites, 20iger Einmalkanülen und ein tiefes Einstechen in die Vene nahe der Schwanzspitze führten dazu, daß sich in keinem Fall an der Injektionsstelle ein solider Tumor ausbildete.

Um unblutigen Ascites zu bekommen und um zu jeder Zeit Tumorzellen vorrätig zu haben, wurde das Sarkom alle 4 Tage mit 0,4 ml nativem Ascites auf gesunde Ratten überimpft.

Nach dem Spontanot der Ratten erfolgte jeweils eine Sektion zur makroskopischen Bestimmung der Metastasenlokalisation und -häufigkeit, wobei in 83 Fällen histologische Präparate zur Kontrolle angefertigt wurden. Als Kriterium des Tumorwachstums dienten Angehorte, Überlebenszeit, Metastasenlokalisation, Anzahl der Metastasen u. Körpergewichtskontrollen. Auf eine Bestimmung der Metastasengewichte mußte verzichtet werden, da sie oft zu klein und meist nicht in toto zu isolieren waren.

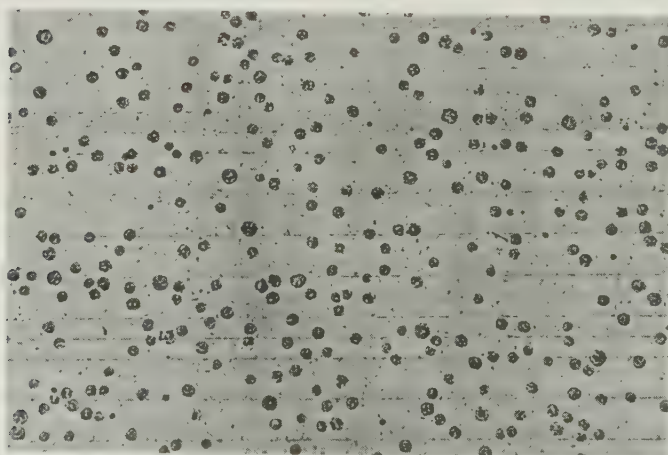


Bild 1

150 fache Vergr.

Ascites des Yoshida-Sarkoms der Ratte

III. B ALLGEMEINE BEOBACHTUNGEN AM YOSHIDA-SARKOM

Im Rahmen unserer Versuche wurde das Yoshida-Sarkom sowohl in Ascites-Form wie auch als solider Tumor gehalten.

Ascites-Form:

Die intraperitoneale Transplantation wurde an insgesamt 62 Tieren mit jeweils 0,4 ml nativem Ascites unter streng sterilen Kautelen durchgeführt. Dabei entwickelten die beimpften Ratten regelmäßig nach 3 - 5 Tagen erneut Ascitesflüssigkeit. Lediglich in zwei Fällen kam es nach der ersten Transplantation zu keinem Tumorangang, jedoch bei einer dieser Ratten nach der zweiten Überimpfung, so daß die Angehrate 98,4 % bei einer durchschnittlichen Überlebenszeit von 5,3 Tagen betrug. Metastasen wurden nach i.p. Überimpfung nicht beobachtet.

Da die Tiere meist, nachdem sie noch völlig unauffällig waren, wenige Stunden später relativ schnell ad exitum kommen, ist es oft schwer, den richtigen Zeitpunkt für die Transplantation zu wählen. Verstrichene Flanken und weiße Ohren (Tumor-Anaemie) machen jedoch das terminale Stadium recht deutlich.

Die Ascitesgewinnung erfolgte sodann, nach Tötung der Tiere in Äthernarkose und Entfernung des Bauchfelles, durch Inzision der zuvor mit Merfen desinfizierten Bauchdecke und Auffangen des Ascites in einem sterilen Schälchen. Bei stark hämorrhagischem Ascites wurden 0,2 ml Liquemin zugesetzt.

Interessant war, daß jeweils nach 7 - 9 Transplantationen (5-6 Wochen) der anfangs recht blutige Ascites in einen unblutigen, rahmigen Ascites überging und die Überlebenszeit geringfügig verlängert wurde. Bei mehrmaligen Kontrollen ergab sich eine durchschnittliche Tumorzellzahl von $129575/\text{mm}^3$ nativem Ascites. Im einzelnen jedoch zeigte sich, daß der blutige Ascites zellreicher ($169500/\text{mm}^3$) als der unblutige ($89650/\text{mm}^3$) war, was die etwas verlängerte Überlebenszeit erklären könnte.

Solide Form:

Um bei einem frühzeitigen Tod oder für den Fall, daß der Tumor

bei i.p. beimpften Ratten nicht anging, sogleich neues Tumormaterial zur Verfügung zu haben, wurden an insgesamt 12 Ratten jeweils parallel zu den i.p. Transplantationen subcutane Transplantationen von 0,4 ml des nativen Ascites unter die Rückenhaut vorgenommen. Dabei entwickelte sich nach 5-10 Tagen an der Injektionsstelle ein solider Tumor bei einer durchschnittlichen Überlebenszeit von 24 Tagen und einer Angehrate von 92 %.

Die Tumor-Zellsuspension zur intraperitonealen Transplantation wurde durch Zerkleinern eines steril entnommenen und verarbeiteten Gewebstückes aus dem nicht nekrotischen Tumorbezirk bereitet.

Die Überführung sowohl der Ascites-Form in den soliden Tumor wie auch umgekehrt gelang mühelos.

Eine Zusammenstellung der in der Literatur angegebenen und der eigenen Werte für die Tumorzellzahl, Angehrate und mittleren Überlebenszeiten zeigt Tab.: 1

	Lettre 1953	1955	Schmährl 1963	1965	eigene Ergebnisse
Tumorzellzahl/mm ³ nativer Ascites	0,5-1 Mill.	100000	130000	10000- 20000	blut. 169500 unbl. 89650
i.p. Angehrate	>91 %	95 %		>90 %	98 %
mittlere Überlebenszeit (d)	10-12	6,5		6±3	5,3
s.c. Angehrate				>90 %	92 %
mittlere Überlebenszeit (d)				23±6	24

Tabelle: 1

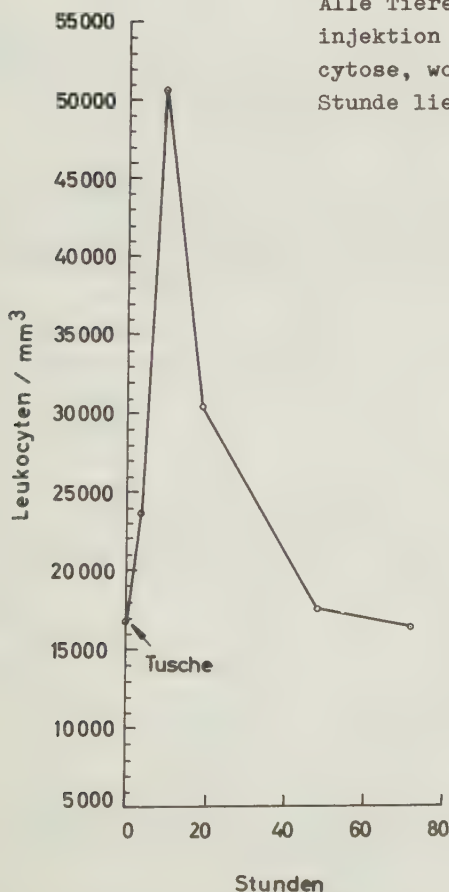
Dabei zeigt sich, daß das Yoshida Ascites-Sarkom mit zunehmender Transplantationsdauer Malignitätssteigerung erfahren hat (erhöhte Angehrate und verkürzte Überlebenszeit), selbst wenn man berücksichtigt, daß eine Abhängigkeit zwischen überimpfter Zellzahl und Überlebenszeit bzw. Tumorentwicklung besteht (LETTRE, SCHMÄHL 1955, KARRER 1965).

IV. A VERSUCHE ZUR BISHERIGEN METHODIK

Versuch: 1

Pro Tier wird 1 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Mittelwert
0-Wert	10500	20200	11700	22600	19600	16920
4 Std.	26000	22200	25100	23100	21800	23650
8 "	43300	56600	44700	40600	68000	50650
18 "	26200	32000	23600	35200	34300	30260
48 "	16000	19900	13000	19400	18400	17340
72 "	12400	14800	13700	17300	22000	16040

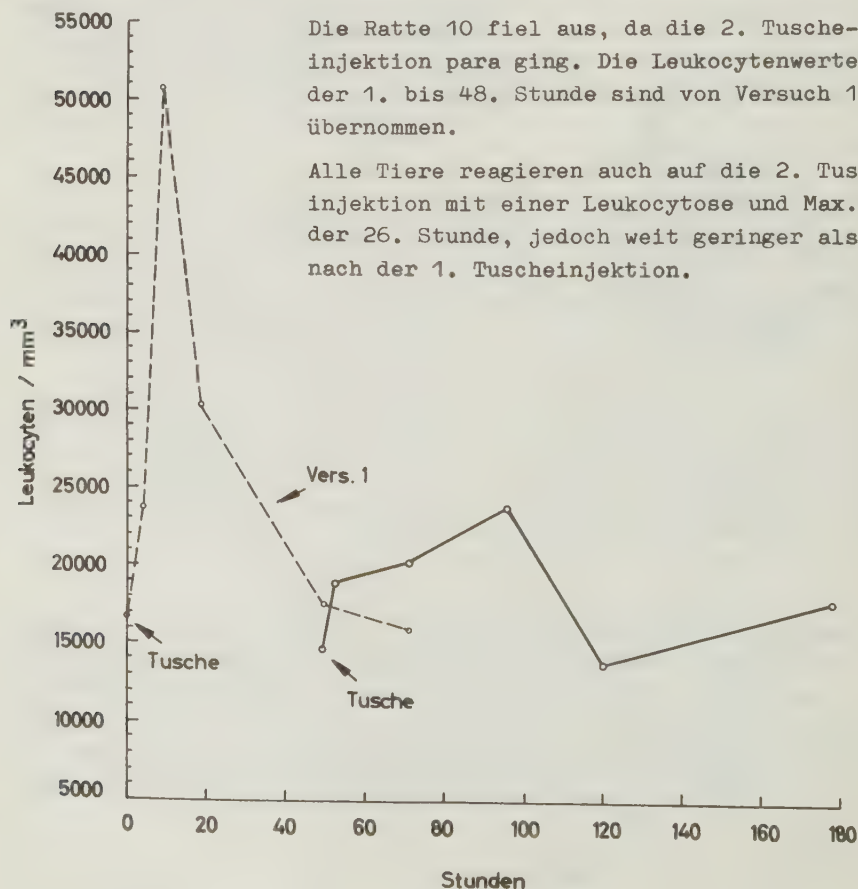


Alle Tiere reagieren auf die Tuscheinjektion mit einer heftigen Leukocytose, wobei das Maximum in der 8. Stunde liegt.

Versuch: 2

Pro Tier werden 2 x 1 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung im Abstand von 48 Stunden i.v. injiziert.

	Ratte 6	Ratte 7	Ratte 8	Ratte 9	Ratte 10	Mittelwert
0-Wert	17600	16100	19000	15900		17150
48 Std.	16600	11400	14000	16800		14700
54 "	20500	17700	20000	18100		19075
72 "	21100	18200	20000	21300		20150
96 "	26200	21400	22200	25800		23900
120 "	16200	12000	11800	14400		13600
168 "	18600	16200	20000	16300		17775



Versuch: 3

Pro Tier wird nach 0, 48 u. 96 Stunden je 1 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

Nach 120 Stunden erfolgen Knochenmarksfunktionsprüfung, am 7. Tag Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

	Ratte 11	Ratte 12	Ratte 13	Ratte 14	Ratte 15	Ratte 16	Mittel- wert
0-Wert	16700	11800	12800	15300	15100	10500	13700
8 Std.	12100	19500	16600	19900	20200	29500	19633
48 "	13600	12900	14600	14800	13400	11600	13483
56 "	13900	16500	11500	11600	24700	7800	14333
96 "	8300	9800	17300	13800	15800	10500	12583
104 "	9800	13900	18100	12300	14300	20200	14766

Pyriferreiz:

120 Std.	14000	20800	12400	13700	16900	20400	16367
124 "	18000	34400	13900	21000	17600	18300	20533
128 "	13700	10300	17600	26100	12600	17200	16250
144 "	23400	17800	22600	33400	14100	23500	22467
168 "	26300	14000	17200	20400	17100	15500	18417
216 "	20000	14900	12200	18400	13100	14400	15500

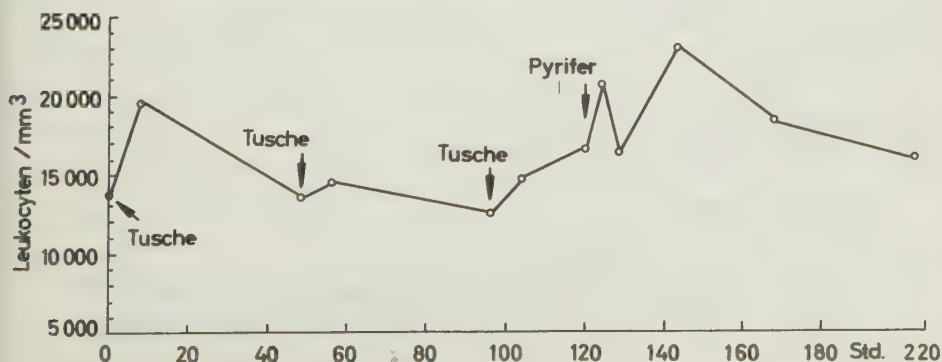
Die Ratten 12 u. 13 reagieren gut, 11 nur sehr schwach, 14 nur nach der ersten, 15 lediglich nach der ersten und zweiten und 16 nur nach der ersten und dritten Tushegabe.

Auf den Pyriferreiz reagieren die Ratten 11, 12 u. 14 gut, 13 u. 15 schwach und 16 nicht.

Frischgew. (g):

Milz	0,93	0,69	0,73	0,90	0,72	1,22	0,87
Leber	7,05	8,32	8,92	6,80	7,37	9,13	7,93

Somit sind die Milz durchschnittlich um 195,9 %, die Leber um 65,5 % des Normalgewichtes erhöht.



Versuch: 4

Pro Tier werden 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

Nach 24 Stunden erfolgen Knochenmarksfunktionsprüfung, am 7. Tag Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

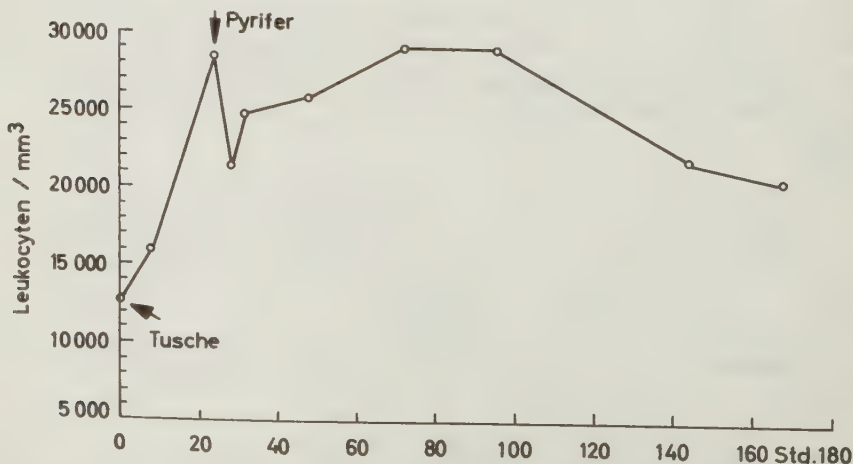
	Ratte 17	Ratte 18	Ratte 19	Ratte 20	Ratte 21	Ratte 22	Mittel- wert
0-Wert	27200	15300	10800	8200	8600	6900	12833
8 Std.	17300	33300	24800	5600	8900	6300	16033
24 "	18200	61600	35200	17100	17800	19800	28283
28 "	15200	37600	32400	8500	18000	16200	21316
32 "	17800	36200	23300	11100	42200	17800	24733
48 "	18000	44300	27900	14800	30800	16600	25400
72 "	42500	36200	31200	30300	18000	16300	29083
96 "	45800	37700	26600	17800	25600	19200	28783
144 "	37000	24000	23800	13900	15200	16200	21683
168 "	23400	29200	15200	17800	19200	16200	20167

Außer Ratte 17 reagieren alle Tiere auf die Tuscheinjektion. Der Pyriferreiz kommt in den steil abfallenden Schenkel der vorausgegangenen Leukocytose (siehe Vers. 1) und somit nicht zur Geltung.

Frischgew. (g):

Milz	0,97	0,94	0,80	0,92	1,14	1,03	0,97
Leber	7,39	7,44	6,30	8,34	7,09	7,54	7,35

Somit sind die Milz durchschnittlich um 229,9 %, die Leber um 53,3 % des Normalgewichtes erhöht.



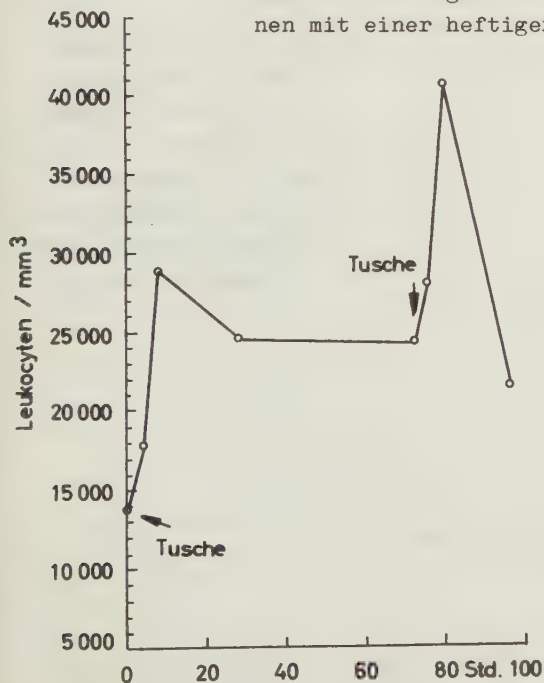
Versuch: 5

Pro Tier werden 2 x 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung im Abstand von 72 Stunden i.v. injiziert.

	Ratte 23	Ratte 24	Ratte 25	Ratte 26	Ratte 27	Mittelwert
0-Wert	15600	11300	14500	9400	7900	13800
4 Std.	22000	18600	13900	19300	16100	17980
8 "	31200	27400	27700	29100	28900	28860
29 "	29400	23300	21800	24500	21200	24833
72 "	28500	22400	22000	†	†	24300
76 "	17900	34300	31900			28033
80 "	65900	30100	26100			40700
96 "	26600	19700	18000			21433

Da die Ratten 26 und 27 drei Minuten nach der zweiten Tuscheinjektion starben, wird der Mittelwert nur aus den Werten der restlichen drei Ratten errechnet.

Alle Tiere reagieren auf beide Tuscheinjektionen mit einer heftigen Leukocytenausschwemmung



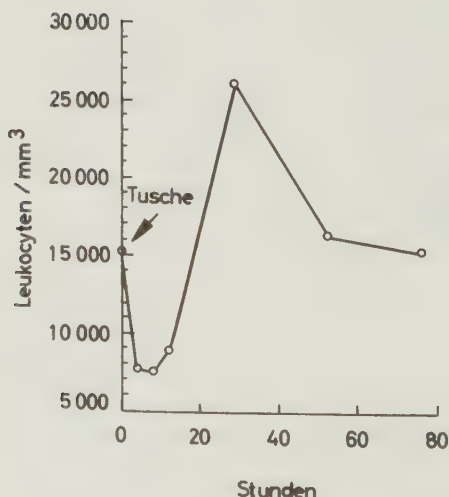
Versuch: 6

Pro Tier werden 2 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

	Ratte 28	Ratte 29	Ratte 30	Ratte 31	Ratte 32	Ratte 33	Mittel- wert
0-Wert	21200	14000	9200	17400	10800	13200	15200
4 Std.	11500	9300	3700	†	†	†	7600
8 "	11600	7200	3300				7450
12 "	13500	†	4300				8900
28 "	25900		26100				26000
52 "	17800		14500				16150
76 "	18300		12500				15400

Da die Ratten 31, 32 und 33 sofort, die Ratte 29 zehn Stunden nach der Tuscheinjektion starben, wird der Mittelwert nur aus den Werten der restlichen zwei Ratten errechnet.

Soweit die Tiere überlebten, zeigten sie jeweils nach der Tuscheinjektion etwa dreißig Minuten lang heftigste tonisch-klonische Kramp fzustände.



Bis zur achten Stunde einschl. sinken die Leukocyten auf leukopenische Werte ab. Doch kommt es bereits bis zur 28. Stunde zu einer enormen reaktiven Leukocytenausschwemmung.

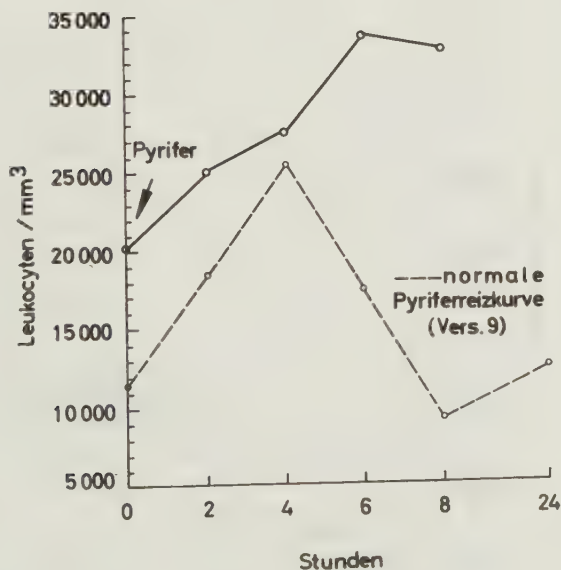
Versuch: 7

Pro Tier werden gleichzeitig 10 ml Periston (5 %) und 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

Nach 24 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung:

	Ratte 34	Ratte 35	Ratte 36	Ratte 37	Ratte 38	Mittelwert
0-Wert	19700	21500	25900	16000	17400	20100
2 Std.	25300	31300	25100	21400	22000	25020
4 "	28800	45500	18300	20100	24200	27380
6 "	42200	54100	18300	18400	33500	33300
8 "	40000	46200	39200	23500	14700	32720

Die Ratte 36 reagiert nicht, alle anderen Tiere reagieren gut auf den Pyriferreiz.



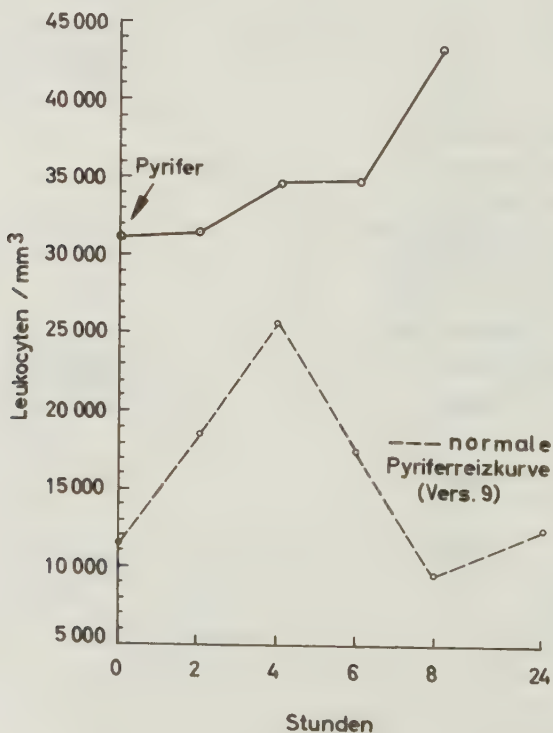
Versuch: 8

Pro Tier werden gleichzeitig 8,6 ml Dextran (Macrodex 6 %) und 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung i.v. injiziert.

Nach 24 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung:

	Ratte 39	Ratte 40	Ratte 41	Ratte 42	Ratte 43	Mittelwert
0-Wert	31200	30800	23400	14300	55800	31100
2 Std.	19500	35400	24400	20800	56600	31540
4 "	28800	34200	29400	33100	46500	34400
6 "	22900	19000	33300	25100	73300	34720
8 "	25500	23300	50100	23900	92800	43120

Die Ratte 39 reagiert kaum, alle anderen Tiere reagieren gut auf den Pyriferreiz.



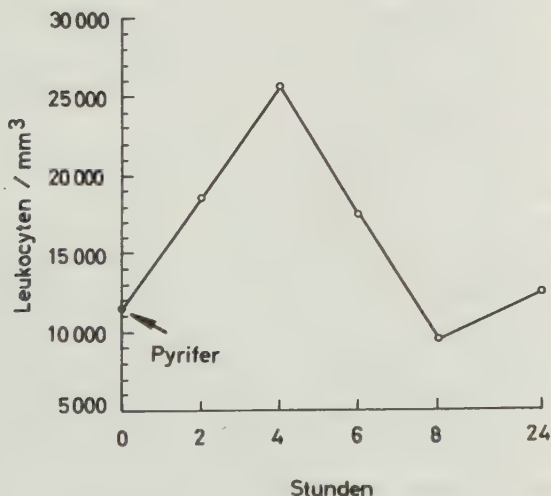
Versuch: 9

Pro Tier werden 2,5 E Pyrifer i.v. injiziert und zweistündlich die Leukocyten gezählt (Moeschlin-Test).

	Ratte 44	Ratte 45	Ratte 46	Ratte 47	Ratte 48	Mittelwert
0-Wert	13500	11300	12600	9800	10500	11540
2 Std.	20700	17600	22100	12600	19000	18400
4 "	23300	24800	27300	20400	31500	25460
6 "	19800	18000	18500	17700	12600	17320
8 "	9400	11100	12100	6900	7500	9400
24 "	14200	13200	8800	12000	12900	12220

Die Tiere verhalten sich während der Injektion und der folgenden Beobachtungszeit völlig unauffällig.

Alle fünf Ratten reagieren gut auf den Pyriferreiz mit einem Maximum in der vierten Stunde und kehren in ihren Leukocytenzahlen bis zur 24. Stunde wieder auf die Ausgangswerte zurück.



IV. B BESPRECHUNG

Die Reaktionen der Tiere nach der Injektion der Tuschelösung waren in ihrer Intensität und Dauer streng proportional der injizierten Tuschemenge. Neben blauen Augen, Ohren und Beinen boten sie eine Symptomatik von Zittern bis zu klonischen Kramp fzuständen, Tachypnoe, Tachykardie und Gleichgewichtsstörungen, die schließlich bei Dosierungen von $2 \times 1,5$ % d.K.G. im Abstand von 72 Stunden bei 2 Ratten und nach Gabe von 2 % d.K.G. bei 4 Ratten zum Tode führte.

Eine Dosierung der 5 %igen Tuschelösung von 2×1 % d.K.G. im Intervall von 48 Stunden bewirkt nach der ersten Injektion eine enorme Leukocytose (Vers. 1) mit einem Maximum in der 8. Stunde, führt jedoch auch nach der zweiten Injektion zu einer wohl etwas abgeschwächten, jedoch verlängerten Reaktion des leukopoetischen Blutbildes mit Maximum in der 48. Stunde nach der zweiten Injektion (Vers. 2). Auch eine dritte Injektion der gleichen Dosierung nach 96 Stunden (Vers. 3) und ein Pyriferreiz nach 120 Stunden wurden ebenfalls durch einen Anstieg der Leukocyten beantwortet, wobei jedoch die Reaktionen sowohl auf die drei Injektionen der Tuschelösungen hin wie auch nach dem Pyriferreiz bei den einzelnen Tieren uneinheitlich verliefen.

Wenngleich die Pyriferreizkurve im Vergleich zur normalen Reaktion (Vers. 9) deutlich abgeflacht verläuft, so schränken doch vorherige Blutentnahmen (KIRMESS) und ein erhöhtes Ausgangsniveau ihre Aussagekraft ein. Am 7. Tag sind die Frischgewichte der Lebern um 195,9 % und die der Milzen um 65,5 % des normalen Gewichtes angestiegen. Bei der Sektion sind Leber und Milz tief schwarz. Die histologischen Präparate zeigen eine enorme Speicherung der Tuschepartikel (Bild 2 u. 3). Stark vergrößerte Lymphknoten im Abdomen und Mediastinum, eine graue Lunge sowie bis hirsekorngroße, wie Froschlauch aussehende Flecke im Darm ergänzen das Bild. Bei der histologischen Kontrolle konnte eine enorme Vermehrung der RE-Elemente infolge des starken Reizes beobachtet werden. (Bild: 4).

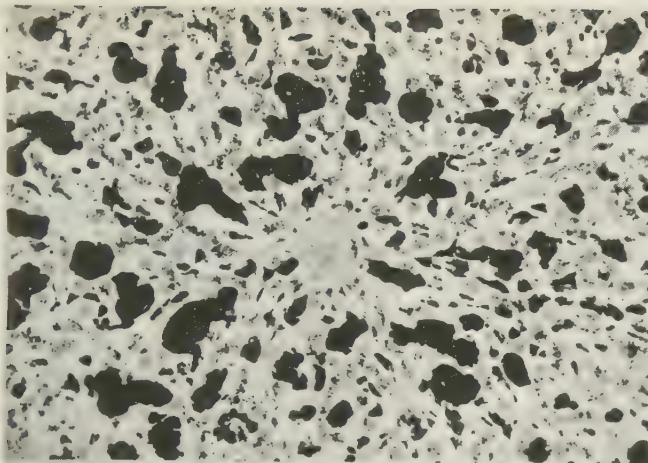


Bild 2: Leber
Speicherung von
Ruschepartikeln
224 fache Vergr.

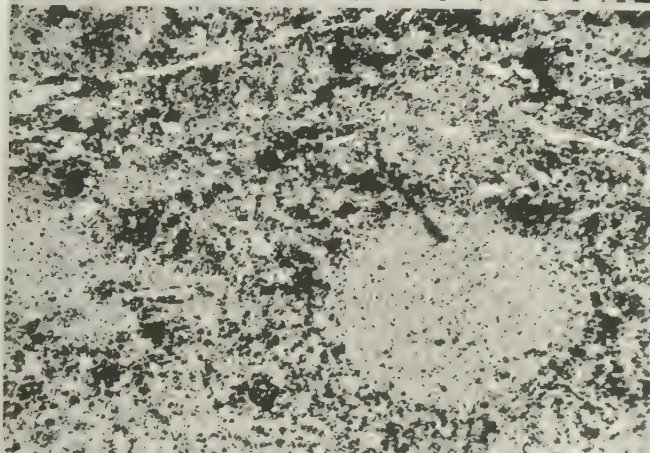


Bild 3: Milz
Speicherung von
Ruschepartikeln
88 fache Vergr.

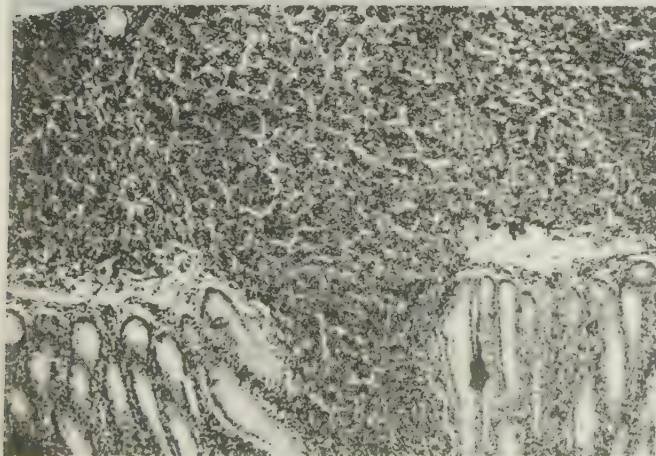


Bild 4: Darm
Vermehrung der
RE-Elemente
88 fache Vergr.

Der nächst höheren Dosierung der Tuschelösung von 1,5 % d.K.G. (Vers. 4) folgt ebenfalls eine starke Leukocytenausschwemmung. Ein Pyriferreiz nach 24 Stunden läßt jedoch die Leukocytenwerte nicht erneut ansteigen. Ein Vergleich mit Vers. 1 macht deutlich, daß der Pyriferreiz in den steil abfallenden Schenkel der Leukocytenbewegung fällt und deshalb im Kurvenverlauf nicht sichtbar werden kann. Jedoch bleibt in der Erholungsphase über längere Zeit eine Leukocytose bestehen. Im übrigen gelten für diese Pyriferreizkurve auch jene Einschränkungen, die bei Vers. 3 gemacht wurden. Auch bei diesem Versuch sind nach 7 Tagen die Frischgewichte der Milzen um 229,9 % und die Lebergewichte um 53,3 % im Vergleich zu Kontrollgruppen erhöht. Die Sektionen ergaben in nicht so ausgeprägter Form einen ähnlichen Befund wie in Vers. 3.

Eine zweite intravenöse Injektion von 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Tuschelösung nach 72 Stunden bewirkte in einem weiteren Versuch (5), von einem erhöhten Niveau ausgehend, eine erneute Reaktion in Form einer ausgeprägten Leukocytose, die mit einer abermaligen Erhöhung der Leukocytenwerte um rund 15 000 genau derjenigen nach der ersten Tuscheinjektion entsprach.

Sofort nach der zweiten Tuscheinjektion starben jedoch 2 Tiere, so daß es sinnlos wäre, durch mehrmalige oder in zeitlich geringerem Abstand wiederholte Tuscheinjektionen einen Summationseffekt und damit eventuell doch noch eine Funktionsbeeinträchtigung erzielen zu wollen.

Daß diese Injektionsmenge nahe der letalen Dosis liegt, zeigt die intravenöse Applikation von 2 % d.K.G. der Tuschelösung (Vers. 6). Wenngleich die Leukocytenwerte nach dieser hohen Dosierung bis zur 12. Stunde gleich den Befunden von Eberhardt auf leukopenische Werte absanken, so darf doch nicht übersehen werden, daß von sechs Tieren drei bereits 4 Minuten und eine vierte Ratte 10 Stunden nach der intravenösen Injektion unter hoch toxischen Bildern starben. Die eingetretene Leukopenie kann somit sicher als ein toxischer Effekt gedeutet werden.

Da als dosis- und zeitabhängige Folge der Absorption großmolekularer kolloidaler Substanzen (Dextran, Periston, Gummi arabicum) durch Zellen des RES von einigen Autoren (STREICHER u. Mitarb. 1965, BARFUSS u. EICHLER, FRIMMER, BEINKE) eine Funktionseinschränkung dieses Systems wahrscheinlich gemacht wurde, sollte nun durch eine gleichzeitige Gabe von Periston und Tusche (Vers. 7) sowie von Macrodex (6 %) und Tusche (Vers. 8) versucht werden, dieses System durch Kombination der Substanzen und eventuelle Summation der Effekte zu "blockieren". Als Test diente hier die Knochenmarksfunktionsprüfung nach Moeschlin (Vers. 9) mit der Pyrifereinjektion 24 Stunden später. Doch zeigte sich in beiden Versuchen, daß zu diesem Zeitpunkt trotz erhöhtem Leukocyten Spiegel die Reaktionsfähigkeit des leukopoetischen Systems nicht aufgehoben war.

V. A VERSUCHE ZUR EIGENEN METHODIK

Versuch: 10

Pro Tier werden 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz i.v. injiziert.
(Zusammensetzung vgl. oben S. 9).

Nach 53 Stunden Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

	Ratte 49	Ratte 50	Ratte 51	Ratte 52	Ratte 53	Mittelwert
0-Wert	14200	8600	10200	10300	11200	10900
2 Std.	15100	14500	12400	13600	17600	13450
4 "	14800	11300	21100	20200	17000	16880
6 "	9500	8600	9900	12300	8500	9760
8 "	5900	8100	8400	11600	7700	8340
10 "	6400	8300	7000	8400	7300	7480
12 "	5800	3800	6900	8400	5500	6080
24 "	9700	13700	9800	11700	10500	11080
48 "	10000	11100	10700	12300	8900	10600

Nach einer Leukocytenausschwemmung in der 2. und 4. Stunde zeigen die Ratten 50 und 52 bis zur 24. Stunde und die Ratten 49, 51 und 53 bis zur 48. Stunde eine Leukopenie. Danach steigen die Leukocytenwerte wieder an, ohne daß es zu einer reaktiven Leukocytose kommt.

Die Tiere 49 und 53 haben auch nach 48 Stunden die Ausgangswerte noch nicht wieder erreicht.

Frischgew. (g):

	49	50	51	52	53	Mittelwert
Milz	0,400	0,321	0,262	0,264	0,268	0,303
Leber	4,800	3,956	3,541	3,820	3,437	3,911

Versuch: 11

In der gleichen Versuchsanordnung von Versuch 10 wird weiteren 5 Ratten je 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz i.v. injiziert.

Nach 53 Stunden Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

	Ratte 54	Ratte 55	Ratte 56	Ratte 57	Ratte 58	Mittelwert
0-Wert	13900	12900	18300	19500	10000	14920
2 Std.	21500	27000	15800	29400	11400	21020
4 "	12700	21800	14200	17900	8500	15020
6 "	11900	12600	10800	19100	9100	12700
8 "	7000	9900	13200	13300	8800	10440
10 "	7800	8500	6800	11500	7500	8420
12 "	6400	10500	6100	9400	7200	7920
24 "	9700	13600	8900	17300	9600	11820
48 "	15200	19600	14100	24800	10500	16840

Nach einer Leukocytenausschwemmung in der 2. Stunde (außer Ratte 56) fallen die Leukocytenwerte aller Tiere unter die Ausgangswerte ab und erreichen diese erst wieder nach 48 Stunden. Ratte 56 hat auch nach 48 Stunden den Ausgangswert noch nicht wieder erreicht.

Frischgew. (g):

	54	55	56	57	58	Mittelwert
Milz	0,369	0,395	0,406	0,455	0,375	0,400
Leber	4,663	4,499	4,445	5,140	4,638	4,677

Tabelle: 2

Zusammenfassung der unter gleichen Bedingungen durchgeführten Versuche 10 und 11.

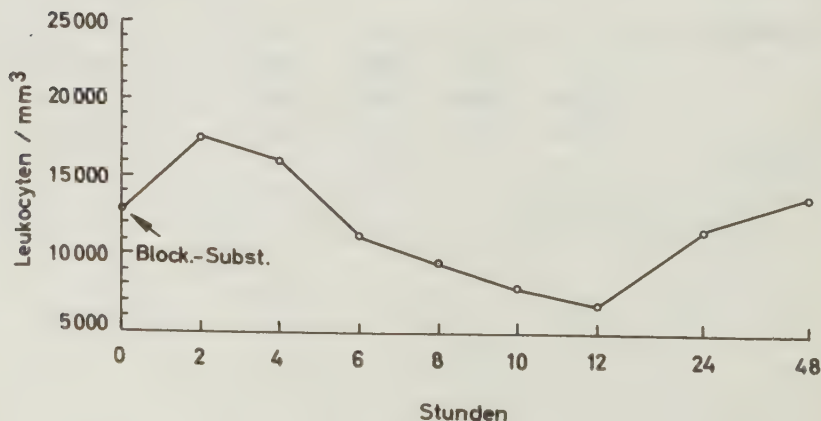
	Vers. 10 Mittelwert	Vers. 11 Mittelwert	gem. Mittelwert
0-Wert	10900	14920	12910
2 Std.	13450	21020	17235
4 "	16880	15020	15950
6 "	9760	12700	11230
8 "	8340	10440	9390
10 "	7480	8420	7950
12 "	6080	7920	7000
24 "	11200	11820	11510
48 "	10600	16840	13720

Nach einer kurzzeitigen Leukocytose in der 2. Stunde fallen die Leukocytenwerte ab, liegen von der 6. Stunde an unter den Ausgangswerten und erreichen diese erst wieder nach 48 Stunden.

Frischgew. (g):

Milz	0,303	0,400	0,352
Leber	3,911	4,677	4,294

Somit sind die Milz durchschnittlich um 19,7 %, die Leber um 10,4 % des Normalgewichtes erhöht.

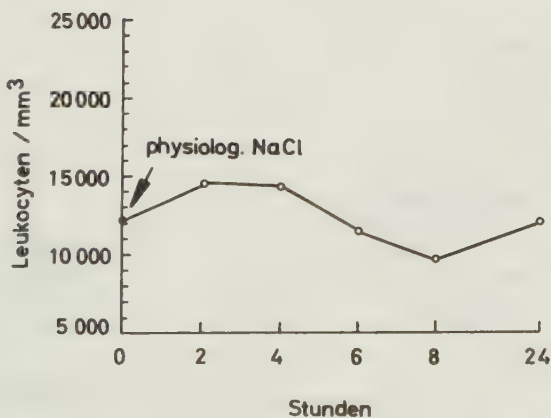


Versuch: 12

Pro Tier wird 1 % d.K.G. physiolog. Kochsalzlösung infundiert und 2stündlich die Leukocyten gezählt.

	Ratte 59	Ratte 60	Ratte 61	Ratte 62	Ratte 63	Mittelwert
0-Wert	8400	11600	9400	17400	14100	12180
2 Std.	11900	13800	12200	17600	17700	14640
4 "	16300	11700	12100	16000	15500	14320
6 "	10500	9100	7800	13500	15700	11320
8 "	6700	8600	9000	11800	13700	9960
24 "	9200	9400	10600	17100	14300	12120

Der geringgradige Anstieg der Leukocytenwerte in der 2. und 4. Stunde mag auf die Bluteindickung während der ersten acht Stunden zurückzuführen sein, da in dieser Zeit die Tiere nüchtern blieben.

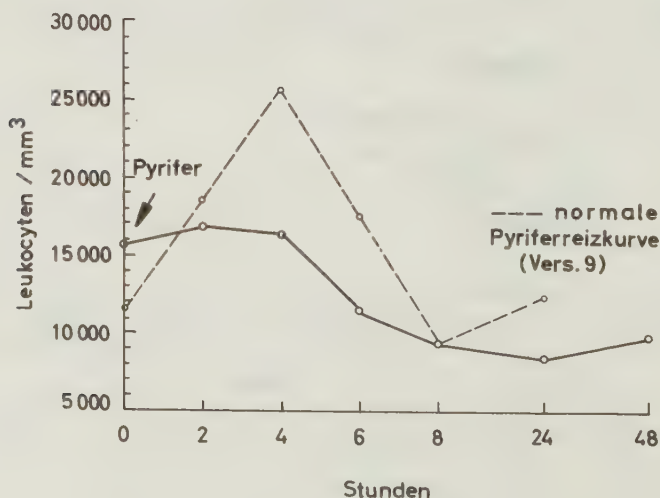


Versuch: 13

Pro Tier wird 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz i.v. injiziert.
Nach 4 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung.

	Ratte 64	Ratte 65	Ratte 66	Ratte 67	Ratte 68	Mittelwert
0-Wert	15700	16900	19700	13800	12600	15740
2 Std.	9400	12000	29000	16400	17500	16860
4 "	15900	20700	10500	16600	16900	16120
6 "	8200	12100	11500	9900	16200	11580
8 "	8200	5400	10900	10600	11000	9220
24 "	7900	7400	9800	8800	8000	8380
48 "	8100	10900	11500	8400	10600	9900

Alle Ratten zeigen eine geringgradige Reaktion in der zweiten (66, 67, 68) bzw. in der vierten (64, 65) Stunde. Von der vierten Stunde an jedoch fallen die Leukocyten aller Tiere bis auf leukopenische Werte ab und haben bis zur 48. Stunde die Ausgangswerte bei weitem noch nicht wieder erreicht.



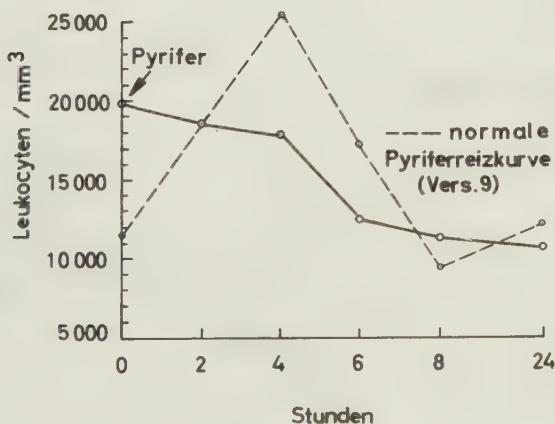
Versuch: 14

Pro Tier wird 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz i.v. injiziert.

Nach 8 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung.

	Ratte 69	Ratte 70	Ratte 71	Ratte 72	Ratte 73	Mittelwert
0-Wert	15700	18100	14800	29000	22000	19920
2 Std.	14300	19700	18500	27200	13200	18580
4 "	10300	18700	18300	27900	13800	17800
6 "	8300	14100	12700	16200	10700	12400
8 "	8900	6800	12700	11300	16600	11260
24 "	7600	9700	12400	8600	15300	10720

Lediglich die Ratte 71 zeigt eine geringgradige Reaktion. Die anderen Tiere reagieren nicht auf den Pyriferreiz. Alle Ratten fallen mit ihren Leukocytenwerten kontinuierlich ab und haben nach 24 Stunden die Ausgangswerte bei weitem noch nicht wieder erreicht.

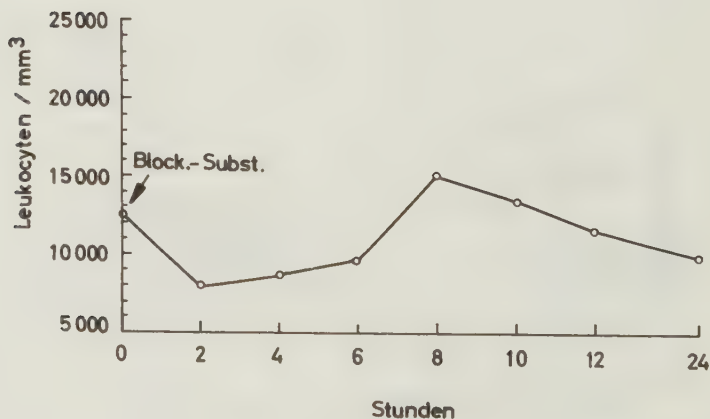


Versuch: 15

Pro Tier werden 3 % d.K.G. der Blockadesubstanz i.v. injiziert.

	Ratte 74	Ratte 75	Ratte 76	Ratte 77	Ratte 78	Mittelwert
0-Wert	13200	10400	8600	14600	15300	12420
2 Std.	6800	7500	7500	9900	8500	8040
4 "	6900	9400	8300	8600	9400	8520
6 "	11600	14300	8600	4900	10100	9900
8 "	17900	16400	12400	8900	19500	15020
10 "	7400	15400	12800	16100	15300	13400
12 "	8800	15000	12800	11300	11200	11820
24 "	9400	12100	11400	7400	10000	10060

Bis zur 6. Stunde liegen die Leukocytenwerte unter den Ausgangswerten.

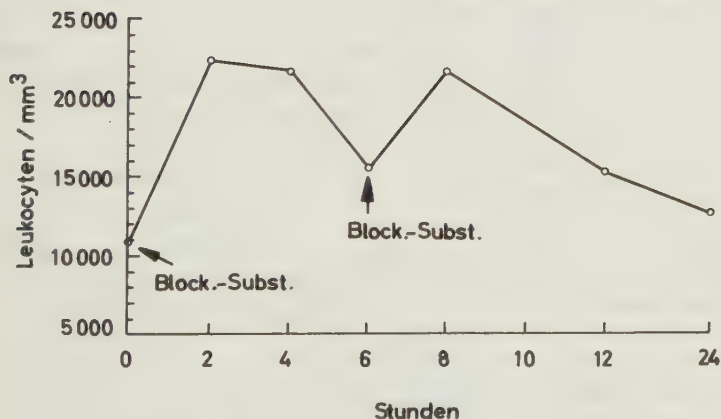


Versuch: 16

Pro Tier werden 2 x 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz im Abstand von 6 Stunden i.v. injiziert.

	Ratte 79	Ratte 80	Ratte 81	Ratte 82	Ratte 83	Mittelwert
0-Wert	11100	10000	13100	10400	9700	10860
2 Std.	33600	16300	20500	19900	21200	22300
4 "	38000	16200	19300	17600	17300	21680
6 "	17600	15100	11400	13500	19700	15460
8 "	29700	16500	16700	14100	30700	21540
12 "	18100	14400	16700	10200	15900	15060
24 "	14200	14000	11900	13000	10200	12660

Alle Ratten reagieren auf beide Injektionen.



Versuch: 17

Pro Tier werden 4 x 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz im Abstand von je 48 Stunden i.v. injiziert.

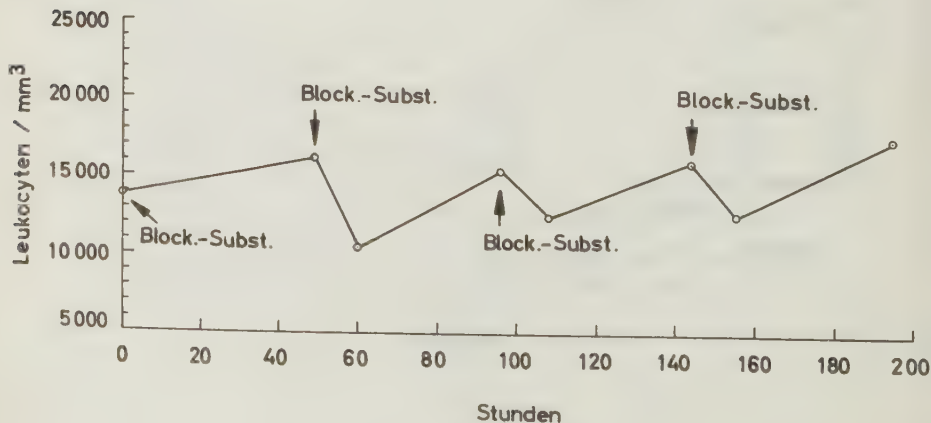
Nach 9 Tagen Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

	Ratte 84	Ratte 85	Ratte 86	Ratte 87	Ratte 88	Mittelwert
0-Wert	14500	14000	10900	15700	14600	13940
48 Std.	12900	14300	19100	16500	17700	16100
60 "	11700	10300	10200	10400	9400	10400
96 "	17100	16300	17300	11000	14000	15140
108 "	15100	13200	11400	10000	12400	12420
144 "	15500	17400	16300	10600	19300	15820
156 "	12600	14900	12600	11200	12000	12660
192 "	16800	19600	15400	19100	16200	17420

Frischgew. (g):

Milz	0,442	0,376	0,422	0,339	0,376	0,391
Leber	5,742	5,322	4,647	4,980	4,894	5,117

Somit sind die Milz durchschnittlich um 33,0 %, die Leber um 6,8 % des Normalgewichtes erhöht.



Versuch: 18

Um die Tuschewirkung in der Konzentration, wie sie in der Blockadesubstanz vorhanden ist, zu prüfen, wird eine Lösung folgender Zusammensetzung hergestellt:

1 Teil Tusche (10 %) und 19 Teile NaCl (0,9 %)

bei 108° C 30 Minuten lang autoklaviert.

Pro Tier wird 1 % d.K.G. dieser Tuschelösung i.v. injiziert.

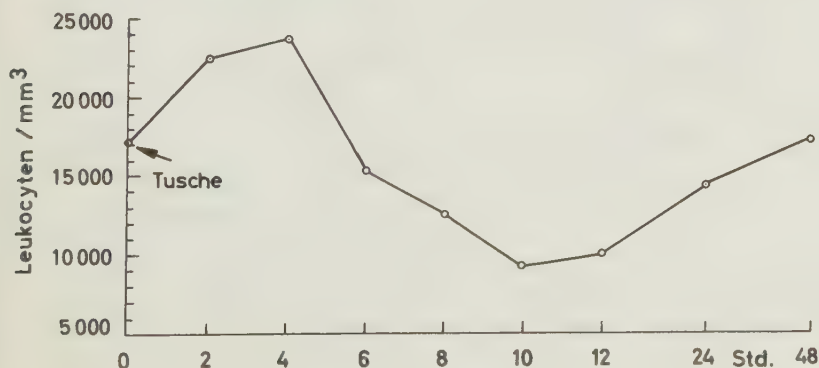
Nach 50 Stunden Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

	Ratte 89	Ratte 90	Ratte 91	Ratte 92	Ratte 93	Mittelwert
0-Wert	14700	16900	16800	15200	21600	17040
2 Std.	27000	27300	12400	25400	19700	22360
4 "	21000	21400	16400	32600	27300	23740
6 "	11400	21800	14800	12100	15800	15180
8 "	10400	18600	10200	10100	13900	12640
10 "	7900	13000	5500	6300	13300	9200
12 "	9700	13200	8500	7000	11900	10060
24 "	13600	23700	8400	12500	13700	14380
48 "	15700	20200	15800	15200	19400	17260

Frischgew. (g):

Milz	0,357	0,329	0,423	0,484	0,467	0,412
Leber	4,117	4,964	4,941	4,303	5,204	4,706

Somit sind die Milz durchschnittlich um 40,1 %, die Leber um 2,0 % des Normalgewichtes erhöht.



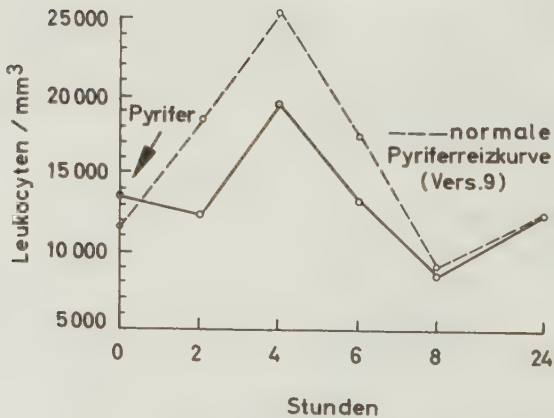
Versuch: 19

Pro Tier wird 1 % d.K.G. der Tuschelösung von Versuch 18 i.v. injiziert.

Nach 8 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung.

	Ratte 94	Ratte 95	Ratte 96	Ratte 97	Ratte 98	Mittelwert
0-Wert	11400	12800	16000	15000	12100	13460
2 Std.	9100	12200	15400	14200	10600	12300
4 "	10900	12600	21300	29600	22800	19440
6 "	12300	14200	15500	12500	12100	13320
8 "	9100	6400	10600	8300	7700	8420
24 "	10000	9300	15800	15200	11000	12260

Nach einem geringgradigen Leukocytenabfall in der zweiten Stunde reagieren alle Tiere gut auf den Pyriferreiz.



Versuch: 20

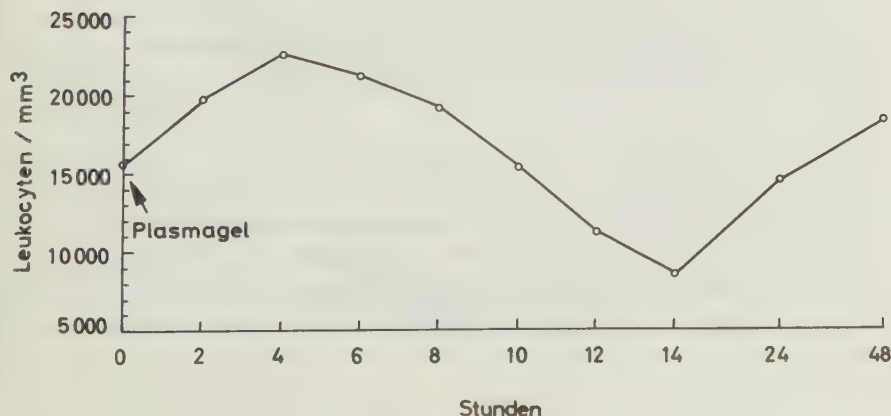
Um die Plasmagelwirkung in der Konzentration, wie sie in der Blockadesubstanz vorhanden ist, zu prüfen, wird eine Lösung folgender Zusammensetzung hergestellt:

1 Teil NaCl (0,9 %) und 1 Teil Plasmagel.

Pro Tier wird 1 % d.K.G. dieser Plasmagellösung i.v. injiziert.

	Ratte 99	Ratte 100	Ratte 101	Ratte 102	Ratte 103	Mittelwert
0-Wert	13800	17500	14500	16600	16100	15700
2 Std.	20200	23000	16600	17900	21400	19820
4 "	27100	21500	20300	21100	22400	22480
6 "	20200	21600	14200	17800	32300	21220
8 "	19300	18100	20500	14100	23800	19160
10 "	13700	17500	12600	15500	17600	15380
12 "	7700	11500	13300	8100	15600	11240
14 "	7400	7800	6500	7900	12600	8450
24 "	13200	17200	14600	10100	17800	14580
48 "	19600	17400	20800	16200	17900	18380

Bis zur achten Stunde einschließlich zeigen die Ratten eine Leukocytenausschwemmung, daran anschließend leukopenische Werte und erreichen ihre Ausgangswerte erst wieder nach 24 (Ratte 99, 100, 101, 103) bzw. nach 48 Stunden (Ratte 102).



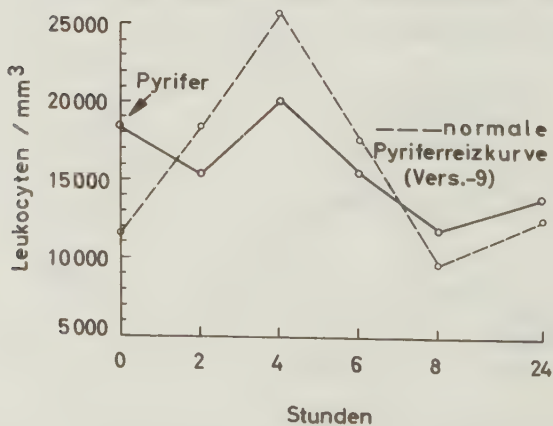
Versuch: 21

Pro Tier wird 1 % d.K.G. der Plasmagellösung von Versuch 20 i.v. injiziert.

Nach 8 Stunden Knochenmarksfunktionsprüfung.

	Ratte 104	Ratte 105	Ratte 106	Ratte 107	Ratte 108	Mittelwert
0-Wert	15800	22600	21100	16100	16300	18380
2 Std.	14400	16000	18800	11700	15400	15260
4 "	22400	22300	21400	14500	19900	20100
6 "	19600	15700	16100	11000	16100	15700
8 "	13800	14600	10300	8700	12000	11880
24 "	13600	13300	17300	11100	14200	13900

Nach einem kurzzeitigen Leukocytenabfall in der zweiten Stunde reagieren die Ratten 104 und 108 gut, die Ratten 105, 106 und 107 nicht auf den Pyriferreiz.



V. B BESPRECHUNG

Im Rahmen dieser Blockadeversuche wurde eine Blockadesubstanz in der bereits angegebenen Zubereitung intravenös in die Schwanzvene injiziert. Bei allen innerhalb dieser Versuchsgruppe gegebenen Dosierungen verhielten sich die Tiere während der Injektion und der folgenden Beobachtungszeit völlig unauffällig, so daß sich keine toxischen Nebenwirkungen feststellen ließen.

Nach der Gabe von 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz (Vers. 10) reagierten die Tiere zunächst mit einer kurzen aber nicht übermäßig starken Leukocytenausschwemmung, lagen jedoch mit ihren Werten in der 6. Stunde p.i. bereits unter den Ausgangswerten und erreichten diese zum Teil erst wieder nach 48 Stunden.

Dieses Ergebnis war unter gleichen Bedingungen bei einer 2. Versuchsgruppe (Vers. 11) voll reproduzierbar. In einer Zusammenfassung dieser beiden Versuchsergebnisse (Tab. 2 St. 30) läßt sich also folgendes ablesen:

Nach einer geringgradigen Leukocytose in der 2. Stunde fallen die Leukocytenwerte ab, liegen von der 6. Stunde an unter den Ausgangswerten und erreichen diese im Schnitt erst wieder nach 48 Stunden. (3 Tiere liegen nach 24 Stunden, 4 Tiere nach 48 Stunden und weitere 3 Tiere auch nach der 48. Stunde noch unter ihren Ausgangswerten).

Bei der Sektion zeigten Lebern und Milzen aller Tiere einen grau-schwarz bis grünlich schimmernden Farbton. Die Frischgewichte dieser beiden Organe nach 53 Stunden bewegten sich im Normbereich.

Daß es sich bei der so lange anhaltenden Leukopenie um einen Verdünnungseffekt handelt, erschien unwahrscheinlich und konnte durch die intravenöse Injektion von 1 ml physiolog. Kochsalzlösung (Vers. 12) ausgeschlossen werden. Den endgültigen und sicheren Beweis einer Funktionsminderung sollte jedoch die Knochenmarksfunktionsprüfung nach Moeschlin erbringen.

Wie Vers. 13 zeigt, kommt durch Pyriferinjektion 4 Stunden nach der Blockadesubstanzgabe lediglich eine abgeschwächte Reaktion in der 2. bzw. 4. Stunde zustande, welche zu einem etwas verzögerten Eintritt der Leukopenie führt. Sowohl nach der 24. wie auch nach der 48. Stunde (28 bzw. 52 Stunden nach Gabe der Blockadesubstanz) liegen die Leukocytenzahlen noch immer weit unter den Ausgangswerten.

Die Pyriferinjektion nach 8 Stunden hingegen (Vers. 14) vermag überhaupt keine vermehrte Leukocytenausschüttung mehr zu bewirken, die Kurve fällt kontinuierlich ab und auch hier liegen die Werte noch nach 24 Stunden (32 Stunden nach Gabe der Blockadesubstanz) unter dem Ausgangsniveau.

Wie diese beiden Versuche zeigen, bewirkt der Pyriferreiz nach 4 Stunden lediglich eine abgeschwächte Reaktion (relative refraktäre Phase), während der Reiz nach 8 Stunden vollständig unbeantwortet bleibt (absolute refraktäre Phase) und die Leukocytenwerte trotz dieser Funktionsprüfung weiterhin absinken.

Eine Dosierung der Blockadesubstanz von 3 % d.K.G. (Vers. 15) läßt die Leukocytenwerte schon von der 2. bis zur 8. Stunde unter den Ausgangswert abfallen. Wahrscheinlich führt diese hohe Substratkonzentration im Blut zu einer schnelleren Resorption und Sättigung.

Daß die absolute refraktäre Phase des leukopoetischen Systems sicher zeitlich sehr eng begrenzt ist, geht aus den weiteren Versuchen hervor, in denen einmal versucht wurde, diese Zeit zu verlängern und zum anderen eine kumulative Wirkung zu erzielen.

Die zweimalige Injektion von 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz im Abstand von 6 Stunden (Vers. 16) führt auch nach der 2. Injektion wieder zu einer deutlichen Reaktion in gleicher Höhe wie nach der ersten Leukocytenausschwemmung, wenn man den linearen Abfall des ersten Reizes auch in der 8. Stunde berücksichtigt.

Bei viermaliger Injektion von je 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz im Abstand von 48 Stunden (Vers. 17) sind die Leukocytenwerte zwar in der folgenden 12. Stunde jeweils deutlich erniedrigt (entsprechend den Versuchen 10 u. 11), doch erfolgen die erneuten Injektionen praktisch vom gleichen Leukocyten Spiegel aus, der dem Ausgangswert entspricht. Das zeigt, daß jeweils nach 48 Stunden eine vollständige Regeneration der reticulo-endothelialen Elemente und damit ihre uneingeschränkte Funktion wieder hergestellt ist. Die Frischgewichtskontrollen 9 Tage p.i. zeigen im Normbereich liegende Leber- und geringfügig erhöhte Milzgewichte um 33,0 % des durchschnittlichen Normalgewichtes bei schwarzen Organfarben.

Um diese Versuche zu ergänzen, war nun von Interesse, wie die Leukocytenbewegungen nach der alleinigen Gabe von Tusche bzw. Plasmagel in gleichen Konzentrationen wie in der Blockadesubstanz gegeben aussahen. Zu diesem Zweck wurden jeweils nach den entsprechenden Injektionen die Leukocytenkurven ohne und mit Pyriferreiz 8 Stunden nach der ersten Applikation ermittelt.

Dabei zeigte sich bei der Injektion von lediglich in physiologischer Kochsalzlösung verdünnter Tusche (Vers. 18) ein ähnliches Reaktionsbild wie nach der Injektion von 1 ml (1 % d.K.G.) der Blockadesubstanz. Jedoch liegen die anfängliche Leukocytose in der 2. und 4. Stunde wie auch alle anderen Werte des Kurvenverlaufes deutlich höher. Der Unterschied wird deutlicher nach der Gabe von Pyrifer (Vers. 19). Denn hier erfolgt nach einem geringen Leukocytenabfall in der 2. Stunde, der nach Moeschlin durchaus in der Reaktionsnorm liegt, eine deutliche Leukocytenausschwemmung. Die Sektionen ergaben eine geringgradige Erhöhung des Milzgewichtes um 40,1 % des durchschnittlichen normalen Milzgewichtes, normales Lebergewicht und schwarz-grünliche Verfärbung dieser beiden Organe.

Eine im Prinzip gleiche Reaktionsform ergibt die Injektion von 1:1 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünntem Plasmagel (Vers. 20) mit einer Erhöhung der Leukocytenzahlen bis einschließlich der 8. Stunde. Wie ein weiterer Versuch einer Knochenmarksfunktionsprüfung 8 Stunden nach der Injektion der Plasmagellösung (Vers. 21) ergibt, reagieren hier die Tiere auf den Pyriferreiz in der 4. Stunde p.i. unterschiedlich. Doch wird deutlich, daß sowohl Tusche wie auch Plasmagel in diesen Konzentrationen jeweils allein injiziert, die Leukocytenausschwemmung auf einen Reiz hin nicht vollständig unterdrücken können.

VI. A VERSUCHE MIT YOSHIDA-ASCITES

Versuch: 22

Pro Tier werden 1×10^5 Tumorzellen i.v. transplantiert.

Ratte:	109	110	111	112	113	114	115
überlebt: (Tage)	22,5	20,5	21,5	24,0	23,5	34,5	19,0

Metastasen

Subcutis	-	+	-	+	+	-	+	4
Mesenterium	-	-	+	-	+	-	+	3
Magen	-	-	-	-	-	-	-	0
Darm	-	-	+	+	-	-	-	2
Ovar	-	-	+	-	-	-	-	1
Niere	-	-	-	+	+	+	-	3
Nebenniere	-	-	+	-	-	+	+	3
Lymphdrüsen	-	+	+	+	-	+	-	4
Thymus	-	-	-	-	+	-	-	1
Mediastinum	-	-	-	-	-	-	-	0
Lunge	-	-	-	-	+	-	-	1
Herz	-	-	-	-	-	-	-	0
Knochen, Knorpel	+	+	-	-	+	-	+	4
Muskulatur	-	++	-	-	+	++	+	4
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	0
Leber	-	-	-	-	-	-	-	0
Milz	-	-	-	-	-	-	-	0
Blase	-	-	-	-	-	-	-	0

Gesamtmetastasen: 30

++ = isolierte Muskelmetastase ohne Knochenbeteiligung.

Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 23,6 Tage = 100 %

Versuch: 22

Körpergewichtskontrollen in 3tägigen Intervallen.

Nach dem Tode Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

Gewichte (g):

	Ratte 109	Ratte 110	Ratte 111	Ratte 112	Ratte 113	Ratte 114	Ratte 115
vor Ver- suchsbeg.	114	99	93	110	99	114	86
3. Tag	111	107	106	114	113	120	100
6. "	116	116	106	122	123	128	107
9. "	122	122	111	124	125	132	108
12. "	120	121	107	121	120	130	107
15. "	101	109	96	105	109	115	89
18. "	105	121	115	124	118	131	91
21. "	98	†	109	131	107	141	†
24. "	†		†	122	96	142	
27. "				†	†	153	
30. "						147	
33. "						136	
						†	

Frischgew. (g):

								Mittelwert
Milz	0,215	0,581	0,185	0,796	0,226	0,086	0,154	0,320
Leber	2,296	6,286	3,855	7,210	3,965	4,907	4,561	4,726

Somit liegen die durchschnittlichen Milz- und Lebergewichte im Normbereich.

Bei den Körpergewichtskontrollen der Ratten zeigt sich eine Gewichtszunahme bis zum 9. Tag. Es folgt bis zum 15. Tag eine Abnahme, an die sich jedoch bis etwa eine Woche vor dem Tode der Tiere eine erneute Gewichtszunahme anschließt.

Versuch: 23

Pro Tier werden 1×10^5 Tumorzellen während der Blockade (8 Stunden nach der Injektion des Blockadeagens in einer Dosis von je 1 % d.K.G.) i.v. transplantiert.

Ratte:	116	117	118	119	120	121	122	
überlebt: (Tage)	25,5	18,5	17,5	19,5	21,0	16,5	18,0	
<u>Metastasen</u>								
Subcutis	+	-	-	+	-	-	-	2
Mesenterium	-	-	+	-	-	-	+	2
Magen	-	-	-	-	-	-	-	0
Darm	-	-	-	-	-	-	-	0
Ovar	+	-	-	+	-	-	+	3
Niere	-	-	-	-	-	-	+	1
Nebenniere	+	-	-	+	-	+	-	3
Lymphdrüse	-	+	+	+	+	+	+	6
Thymus	-	+	+	+	-	+	+	5
Mediastinum	+	-	-	-	-	+	-	2
Lunge	-	+	-	-	-	+	+	3
Herz	-	-	-	-	-	-	-	0
Knochen, Knorpel	-	-	-	+	+	-	-	2
Muskulatur	++	-	++	-	++	-	++	4
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	0
Leber	-	-	-	-	-	-	-	0
Milz	-	-	-	-	-	-	-	0
Blase	-	-	-	-	-	-	-	0
Gesamtmetastasen:								33

++ = isolierte Muskelmetastase ohne Knochenbeteiligung.

Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 19,5 Tage = 82,63 %

Versuch: 23

Körpergewichtskontrollen in 3tägigen Intervallen.

Nach dem Tode Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

Gewichte (g):

	Ratte 116	Ratte 117	Ratte 118	Ratte 119	Ratte 120	Ratte 121	Ratte 122
vor Ver- suchsgeg.	98	114	104	119	106	108	98
3. Tag	117	123	115	129	119	111	111
6. "	107	126	122	133	124	117	113
9. "	115	131	128	136	129	120	119
12. "	121	135	133	144	132	130	125
15. "	123	141	131	136	130	121	132
18. "	128	142	125	119	125	†	119
21. "	121	†	†	†	108		†
24. "	122				†		
	†						

Frishgew.:

Milz	0,165	0,429	0,393	0,505	0,595	0,332	0,511
Leber	3,547	7,139	5,578	5,892	6,180	6,120	6,531
Mittelwert: Milz	0,419; Leber 5,855						

Somit sind die Milz durchschnittlich um 42,5 %, die Leber um 22,1 % des Normalgewichtes erhöht.

Bei den Körpergewichtskontrollen der Ratten zeigt sich eine Gewichtszunahme durchschnittlich bis zum 14. Tag. Daran anschließend folgt ohne erneute Gewichtszunahme eine bis zum Tode anhaltende Tumorkachexie.

Versuch: 24

Pro Tier werden 1×10^5 Tumorzellen während der Blockade (8 Stunden nach der Injektion des Blockadeagens in einer Dosis von je 1 % d.K.G.) i.v. transplantiert. Im Abstand von je 48 Stunden wird die Blockadeagensgabe 3 x wiederholt.

Ratte:	123	124	125	126	127	128	129	
überlebt: (Tage)	23,0	35,5	23,0	16,5	19,5	20,5	32,5	
<u>Metastasen</u>								
Subcutis	-	-	-	-	+	-	-	1
Mesenterium	-	-	-	+	-	+	+	3
Magen	-	-	-	-	-	-	-	0
Darm	-	-	+	-	-	+	-	2
Ovar	-	-	-	-	+	-	-	1
Niere	-	+	+	-	-	-	+	3
Nebenniere	-	+	-	+	-	-	-	2
Lymphdrüse	-	-	-	+	+	+	+	4
Thymus	+	-	+	+	+	-	-	4
Mediastinum	+	-	-	-	-	-	+	2
Lunge	-	-	-	+	+	-	-	2
Herz	-	-	+	-	-	-	-	1
Knochen, Knorpel	-	+	-	-	-	-	+	2
Muskulatur	-	+	++	-	++	-	-	3
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	0
Leber	-	-	-	-	-	-	-	0
Milz	-	-	-	-	-	-	-	0
Blase	-	-	-	-	-	-	-	0
Gesamtmetastasen:								30

++ = isolierte Muskelmetastase ohne Knochenbeteiligung.

Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 24,4 Tage = 103,39 %

Versuch: 24

Körpergewichtskontrollen in 3tägigen Intervallen.

Nach dem Tode Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

Gewichte (g):

	Ratte 123	Ratte 124	Ratte 125	Ratte 126	Ratte 127	Ratte 128	Ratte 129
vor Ver- suchsbe- g.	102	121	109	102	115	98	114
3. Tag	111	132	118	113	120	108	122
6. "	112	133	123	116	128	110	126
9. "	116	135	124	123	129	108	121
12. "	118	142	128	129	131	114	132
15. "	122	144	121	127	137	116	133
18. "	112	146	115	†	123	108	135
21. "	110	143	114		†	†	131
24. "	†	152	†				141
27. "		148					148
30. "		146					134
33. "		135					†
		†					

Frischgew. (g):

Milz	0,117	0,123	0,253	0,341	0,584	0,388	0,193
Leber	3,363	3,023	3,726	5,980	6,649	5,143	3,882
Mittelwert: Milz	0,286; Leber 4,538						

Somit liegen die durchschnittlichen Milz- und Lebergewichte im Normbereich.

Bei den Körpergewichtskontrollen der Ratten zeigt sich eine Gewichtszunahme durchschnittlich bis zum 17. Tag. Daran anschließend folgt ohne erneute Gewichtszunahme eine bis zum Tode anhaltende Tumorkachexie.

Versuch: 25

Pro Tier werden 1×10^5 Tumorzellen i.v. transplantiert.
24 Stunden später bekommt jedes Tier 1 % d.K.G. Blockade-
agens i.v. injiziert.

Ratte:	130	131	132	133	134	135	136	
überlebt: (Tage)	22,5	15,0	22,0	26,5	19,5	22,0	19,5	
<u>Metastasen</u>								
Subcutis	-	+	-	+	+	-	-	3
Mesenterium	-	+	-	+	-	+	-	3
Magen	-	-	-	-	-	-	-	0
Darm	-	+	-	-	-	-	-	1
Ovar	-	-	-	-	+	+	-	2
Niere	-	-	-	+	-	-	-	1
Nebenniere	+	+	-	+	+	-	-	4
Lymphdrüsen	+	+	-	+	+	-	+	5
Thymus	-	-	-	-	-	-	+	1
Mediastinum	-	+	-	-	-	-	-	1
Lunge	-	+	-	-	-	-	-	1
Herz	-	-	-	-	-	-	-	0
Knochen, Knorpel	+	-	+	+	-	-	+	4
Muskulatur	-	-	+	-	++	++	-	3
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	0
Leber	-	-	-	-	-	-	-	0
Milz	-	-	-	-	-	-	-	0
Blase	-	-	-	-	-	-	-	0
Bauchdecke	+	-	+	-	-	-	-	<u>2</u>
Gesamtmetastasen:								31

++ = isolierte Muskelmetastase ohne Knochenbeteiligung.

Die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 21,0 Tage = 88,98 %.

Versuch: 25

Körpergewichtskontrollen in 3tägigen Intervallen.

Nach dem Tode Frischgewichtsbestimmungen von Milz und Leber.

Gewichte (g):

	Ratte 130	Ratte 131	Ratte 132	Ratte 133	Ratte 134	Ratte 135	Ratte 136
vor Ver- suchsgeg.	112	124	109	113	109	100	93
3. Tag	120	135	121	122	119	111	106
6. "	126	145	129	134	126	119	112
9. "	131	152	134	144	133	122	119
12. "	135	155	145	144	136	128	121
15. "	135	147	142	142	134	126	115
18. "	139	†	146	140	131	124	91
21. "	148		132	140	†	119	†
24. "	†		†	141		†	
27. "				129			
				†			

Frischgew. (g):

Milz	0,642	0,557	0,402	0,201	0,579	0,257	0,187
Leber	5,770	8,455	6,453	4,373	7,099	5,423	3,367
Mittelwert: Milz	0,404; Leber 5,849.						

Somit sind die Milz durchschnittlich um 37,4 %, die Leber um 22,0 % des Normalgewichtes erhöht.

Bei den Körpergewichtskontrollen der Ratten zeigt sich eine Gewichtszunahme durchschnittlich bis zum 13. Tag. Daran anschließend folgt ohne erneute Gewichtszunahme eine bis zum Tode anhaltende Tumorkachexie.

VI. B BESPRECHUNG

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen Funktionszustand des retikulo-endothelialen Systems und Metastasenwachstum näher zu untersuchen, wurden vier Versuchsgruppen zu je 7 Ratten gebildet und mit 1×10^5 Tumorzellen intravenös beimpft.

Einer Gruppe wurden lediglich Tumorzellen transplantiert, während die restlichen 21 Ratten außerdem Blockadesubstanz zu verschiedenen Zeiten injiziert bekamen. Als Kriterien des Metastasenwachstums dienten Angehrate, Überlebenszeit, Metastasenlokalisation, Anzahl der Metastasen und Körpergewichtskontrollen alle 72 Stunden.

Um weiterhin Aufschluß über die Proliferationstendenz des RES zu gewinnen, wurden nach dem Tod der Tiere jeweils die Frischgewichte von Leber und Milz mit berücksichtigt.

Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt:

Versuch	22	23	24	25
Angehrate %	100	100	100	100
Überlebenszeit (d)	23,6	19,5	24,4	21,0
%	100,00	82,63	103,39	88,98
Metastasenlokalisation				
Subcutis	4	2	1	3
Mesenterium	3	2	3	3
Darm	2	0	2	1
Ovar	1	3	1	2
Niere	3	1	3	1
Nebenniere	3	3	2	4
Lymphdrüsen	4	6	4	5
Thymus	1	5	4	1
Mediastinum	0	2	2	1
Lunge	1	3	2	1
Herz	0	0	1	0
Knochen, Knorpel	4	2	2	4
Muskulatur ges.:	4	4	3	3
" ohne Knochenbet.	2	4	2	2
Bauchdecke	0	0	0	2
Metastasen gesamt	30	33	30	31
durchschn. Zunahme (d)	1.- 9.	1.-14.	1.-17.	1.-13.
Körperge- Abnahme (d)	9.-15.	14.-†	17.-†	13.-†
wicht: Zunahme (d)	15.-~7.v.†	-----	-----	-----
Erhöhung des Milz im Norm-	42,5 %	im Norm-	37,4 %	
Norm. Gew. um: Leber bereich	22,1 %	bereich	22,0 %	
makroskopische Milz rot-braun	grau-	tief-	grau-	
Organfarbe Leber "	schwarz	schwarz	schwarz	

Tabelle 3

Leber, Gehirn, Milz und Blase waren stets frei von Metastasen.

VII. DISKUSSION

In den letzten Jahrzehnten wurde dem Phänomen der RES-Blockade gesteigerte Aufmerksamkeit geschenkt und in zahlreichen Untersuchungen konnte sie durch die Injektion größerer Mengen kolloidaler oder andersartiger Substanzen wahrscheinlich gemacht werden.

Die Möglichkeiten, mit reiner Tuschelösung eine Blockade zu erreichen, werden in der Literatur unterschiedlich bewertet.

STANDENATH, KOENIG, BIOZZI und HALPERN konnten in ausgedehnten Versuchsserien nach Tuscheinjektionen keine Blockade feststellen. Während Biozzi und Halpern zwar eine kurzzeitige, geringgradige Senkung der Phagocytoseaktivität angeben, berichtet Standenath sogar über eine gesteigerte AK-Bildung nach AG-Gabe, und auch Koenig konnte nach der Gabe von Tusche in physiologischer Kochsalzlösung keine verlangsamte Radiogold-Clearance feststellen. Diese Ergebnisse lassen eher auf eine Reizung als eine Depression schließen.

Demgegenüber stehen Mitteilungen von JELIN u. Mitarb., sowie EBERHARDT. Jelin u. Mitarbeitern gelang es nach vorangehender RES-Blockade, im Gegensatz zu Standenath, eine Hemmung der AK-Bildung auf AG-Gabe hin nachzuweisen, während bei Eberhardt eine hohe Tuschedosis von 2 ml einer 5 %igen Lösung bei Ratten zu einem Rückgang der Leukocytenwerte führte und die vollständige Unterdrückung eines gesetzten Pyriferreizes bewirkte (Blockade der Leukocytenausschwemmung), wohingegen es bei niedrigerer Dosierung zu einer Leukocytenausschwemmung kam.

Nähere Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit bestätigen zwar die von Eberhardt angegebenen Befunde, doch zeigen sie gleichzeitig, daß die Reaktionen auf diese hohe Tuschedosis hin kein gewünschter Blockadeeffekt sind, sondern vielmehr hoch toxische Reaktionen darstellen und diese Tuschemenge bereits im Bereich der dosis laetalis liegt. Auch paßt ein plötzlicher und enormer Leukocytenanstieg in der 28. Stunde nicht zum Bild einer Blockade.

Einzelne und wiederholte Tuscheinjektionen, die in ihrer Menge geringgradig darunter liegen, wirken bereits als starker Reiz auf das leukopoetische System und führen zu einer Stimulierung des RES. 7 Tage nach der Tuscheinjektion sind die Frischgewichte von Leber und Milz, wie auch BIOZZI und HALPERN beobachtet haben, zumindest zum Teil in Folge einer Vermehrung retikulärer Elemente auf diesen starken Reiz hin auffällig angestiegen, und auch das übrige lymphatische Gewebe (Lymphknoten, Plaques Payeri) ist deutlich hypertrophiert. Da die Tusche im Organismus nicht metabolisiert wird, bleibt sie in der Leber und Milz noch lange Zeit in größeren Klumpen nachweisbar.

Mehrere Autoren (STREICHER u. Mitarb. 1965, BARFUSS und EICHLER, FRIMMER und BEINKE) konnten nach der Injektion größerer Mengen von Plasmaexpandern (Periston, Macrodex) eine Funktionsbeeinträchtigung des RES bis zu 50 Stunden nachweisen. Aus den Versuchen von BURRI u. ALLGÖWER, welche Mäusen Physiogel und Macrodex bis zu einer Menge von 2,5 % des Körpergewichtes und anschließend ein Endotoxin injizierten, ergibt sich jedoch keinerlei funktionelle Beeinträchtigung.

Eigene Untersuchungen, in denen versucht wurde, durch Kombination einer eben tolerierten Tuschemenge mit hohen Dosen von Periston bzw. Macrodex evtl. durch Addition und Summation der Effekte doch noch eine Funktionsminderung zu erreichen, zeigten 24 Stunden später bei einem Pyriferreiz eine uneingeschränkte Reaktion.

Die Ursache für die unterschiedlichen Befunde und Deutungen sind vielfältiger Natur und liegen wohl darin begründet, daß verschiedene Tuschelösungen und Nachweismethoden, welche zum Teil unterschiedliche RES-Funktionen prüfen, Anwendung finden und die Blockadenachweise nicht zu den gleichen Zeiten p.i. geführt werden. So erfolgte die AG-Gabe bei Jelin und Mitarb. bereits 3 Stunden nach der Blockade, bei Standenath erst 4 Tage nach vollendeter RES-Speicherung der Tusche. Es kann als sicher gelten, daß beide Antigen-Gaben auf unterschiedliche Funktionszustände des RES treffen und somit ein Vergleich der Resultate nicht mehr möglich wird.

Ferner muß darauf hingewiesen und beachtet werden, daß toxische Effekte (Fibrinkoagulation, Flockung der Kohlepartikel und Verstopfung von Lungenkapillaren, Lipaemie, Minderung der Leberfunktionen und Nekrosen der proximalen und distalen Nierentubuli) beschrieben worden sind, die auf den in gewöhnlicher Tusche enthaltenen Schellack zurückzuführen sind (HOPPS). Deshalb wurde bei unseren Versuchen, wie auch bei Koenig und Eberhardt, eine Schellack-freie Tusche verwendet. Mehrere Versuche zeigten, daß der darin enthaltene Fischleim nicht toxisch wirkt (BIOZZI u. Mitarb. 1953). Bei Untersuchungen, in denen herkömmliche Tusche Anwendung fand und findet, muß also mit einer Verfälschung der Ergebnisse durch den anwesenden Schellack gerechnet werden.

Wie unsere Versuche weiter zeigten, haben aber auch die Injektionen großer Mengen der Spezialtuschelösung eine toxische Wirkung, die nicht fälschlicherweise der Blockade zugeschrieben werden darf. Die Forderung, daß eine Blockadesuspension homogen und stabil sein soll (BIOZZI u. Mitarb. 1953), ist ein weiterer Grund, warum reine Tuschelösungen als Blockadesubstanzen ungeeignet erscheinen.

Über Möglichkeit und Wesen einer Blockade durch in Gelatine stabilisierte Tusche gaben weitere Versuchsserien Aufschluß. Darüber hinaus konnte der zeitliche Ablauf der erzielten Blockade aufgezeigt werden.

Größere Übereinstimmung über eine blockierende Wirkung herrscht beim Gebrauch von in Gelatine stabilisierten Tuschepartikeln (MURRAY, KOENIG u. Mitarb., BIOZZI u. Mitarb. 1953, BURRI und ALLGÖWER). Selbst bei Anwendung unterschiedlicher Nachweismethoden wird in allen uns zugänglichen Arbeiten nach der Injektion dieser Suspension von einer folgenden Blockade gesprochen. Doch sollten auch hier beim Vergleich der Ergebnisse die unterschiedlichen Funktionsprüfungen zu verschiedenen Zeiten beachtet werden. Geben die Methoden von Biozzi Aufschluß über die Phagozytoseaktivität des RES im Augenblick der Tuschegebe, die von Murray und Koenig über die Aktivität 1 Stunde nach der Injektion und prüfen Burri und Allgöwer 4 Stunden nach Blockade-

agensgabe die Resistenzschwächung von Mäusen, so untersuchten wir durch einen zu verschiedenen Zeiten gesetzten Reiz den Funktionszustand des leukopoetischen Systems und können dadurch Näheres über den zeitlichen Ablauf der Blockade aussagen.

Murray u. Koenig konnten diese mit Hilfe einer Clearance-Bestimmung von in Gelatine stabilisiertem radioaktiven Gold (Au ¹⁹⁸) 1 Stunde nach der Gelatine-Tuscheinjektion, aber in geringem Maße auch nach reiner Gelatine-Gabe nachweisen.

Während Burri u. Allgöwer ebenfalls indirekt nach Injektion von 1,5 % d.K.G. einer 5 %igen Kohlelösung, stabilisiert in Gelatine und nachfolgender Endotoxin-Gabe, bei Mäusen eine Blockade erzielen konnten, weist Biozzi bei direkter Bestimmung der Tusheclearance deren Abnahme proportional dem Sättigungsgrad der retikulo-endothelialen Zellen nach. Für ihn ist der bestimmende Faktor das Verhältnis der phagocytierten zur gesamten injizierten Kohlemenge, wobei er den zirkulierenden Kohlepartikeln einen stimulierenden Einfluß, den phagocytierten einen Sättigungseffekt ("Hemmeffekt") auf die Phagocytoseaktivität des RES zuschreibt.

Wie einleitend erwähnt, lassen sich aus dem Grad der Reizantwortung auf eine Pyriferinjektion hin Rückschlüsse auf den Funktionszustand des RES ziehen. Diese Tatsache verwertend, wurden in unseren Versuchen durch intravenöse Injektionen von 2,5 E Pyrifer nach der Blockadesubstanz-Gabe Leukocytenreizkurven ermittelt, welche über einen längeren Zeitraum eine Aussage über den Grad der Blockade zulassen.

Dabei zeigte sich nach intravenöser Injektion von 1 % d.K.G. der Blockadesubstanz nach einer geringgradigen Leukocytenausschwemmung bis zur zweiten Stunde ein kontinuierlicher Abfall bis auf leukopenische Werte, so daß die Ausgangswerte im Schnitt erst wieder nach 48 Stunden erreicht wurden. Die Frischgewichte von Leber und Milz nach 53 Stunden bewegten sich im Normbereich, d.h. daß nach dieser Zeit noch keine Vermehrung der retikulo-endothelialen Elemente nachweisbar ist.

Die kurze initiale Leukocytenausschwemmung stellt die normale Reaktion auf die im Blut kreisenden und zu dieser Zeit als Reiz wirkenden Tuscheartikel dar und wird mit zunehmender Funktionsminderung schnell fortschreitend unterbunden. Der starke Abfall aller Leukocytenwerte als Folge eines Verdünnungseffektes konnte experimentell ausgeschlossen werden.

Den direkten Nachweis einer Funktionsminderung erbringen jedoch die Pyriferreizkurven nach 4 und 8 Stunden. Reagiert das leukopoetische System nach 4 Stunden noch ganz schwach bis zur sechsten Stunde (relative refraktäre Phase), so kommt der Pyriferreiz nach 8 Stunden überhaupt nicht mehr zur Wirkung (absolute refraktäre Phase). Ungeachtet des starken Reizes fallen die Leukocytenwerte in beiden Versuchen konstant ab und liegen 32 bzw. 52 Stunden nach Blockadesubstanzgabe noch unter ihren Ausgangswerten. Die eingeschränkte bzw. sogar aufgehobene Reaktionsfähigkeit läßt für diesen Zeitpunkt auf ein in seiner Funktion stark beeinträchtigtes, in bezug auf den Pyriferreiz hin sogar auf ein blockiertes RES schließen.

Durch wiederholte Tuscheinjektionen lassen sich in ihrem Ausmaß wohl unterschiedliche Reaktionen, doch keine Dauerblockade erzielen, was zeigt, daß eine absolute Blockade des RES nur für relativ kurze Zeit besteht.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß eine Blockade im eigentlichen Sinne nur sehr schwer und für ganz kurze Zeit zu erzielen ist. Die potentiellen RE-Elemente ("aktives Mesenchym") und die überaus starke Proliferationstendenz machen eine Dauerblockade, auch durch wiederholte Injektionen, die eher zu einer Erschöpfung des RES führen, unmöglich. Es ließ sich zeigen, daß nach spätestens 48 Stunden die volle Funktionsfähigkeit des RES bereits wieder vorhanden ist. Im Hinblick dieser Ergebnisse scheint es richtiger zu sein, von einer temporären Funktionsminderung, als von einer Blockade des RES zu sprechen.

Als Wesen des Blockademechanismus werden im Prinzip drei Möglichkeiten diskutiert:

1. Folge eines Sättigungseffektes durch Phagocytose und damit abhängig von der Anzahl injizierter Partikel und dem Sättigungsgrad der RE-Zellen; Beseitigung der Blockade durch folgende RES-Hypertrophie (BIOZZI u. Mitarbeiter 1953, 1957; BENACERRAF u. Mitarbeiter 1954).
2. Abhängigkeit vom Spiegel eines zur Phagocytose notwendigen spezifischen Serum-Opsonins, der durch das blockierende Agens verändert wird (JENKIN u. ROWLEY, MURRAY).
3. Abhängigkeit allein von hohen zirkulierenden Mengen des blockierenden Agens (Mechanismus noch ungewiß) (KOENIG u. Mitarbeiter).

Die Abhängigkeit von einer fortdauernden Anwesenheit des Blockadeagens im Kreislauf scheint nach unseren Ergebnissen nicht zuzutreffen. Die zu Beginn beobachtete Reizwirkung und das Eintreten der vollständigen Blockade erst nach 5-9 Stunden sprechen gegen diese Theorie. Die Leukocytenausschwemmung scheint sogar so lange bestehen zu bleiben, wie die Mehrzahl der Blockadepartikel noch nicht fixiert ist.

Die Aufgabe eines spezifischen Serum-Opsonins im Rahmen des Blockademechanismus kann durch unsere Methodik nicht erfaßt werden. Doch lassen die eigenen Ergebnisse (Blockadeverlauf) sich eher als Folge eines Sättigungseffektes deuten.

Der Grund für die Tatsache, daß ein stabilisierendes Agens, hier Gelatine, die Blockadewirkung der Tusche erst ermöglicht, ist noch nicht vollständig geklärt. MURRAY u. KATZ konnten zeigen, daß zunehmende Konzentrationen von stabilisierender Gelatine zu abnehmenden Clearance-Raten einer konstanten Anzahl einer Tracer-Substanz führen. Die Tatsache, daß alleinige Tuscheapplikation nicht zu einer Blockade führt, jedoch alleinige Gelatinegabe eine, wenn auch geringgradige, Funktionsbeeinträchtigung bewirkt, (WAGNER u. Mitarb., MURRAY, eigene Untersuchungen) verleitet zu der Annahme, daß weniger die Art des gebrauchten Blockadepartikels als das stabilisierende Agens für das Blockadephänomen verantwortlich zu machen ist. Nach

MURRAY umgibt sich möglicherweise das Tuscheartikel mit einer Gelatinehülle, wodurch letztere eine Oberflächenvergrößerung erfährt, so daß der Blockadeeffekt mehr von den Oberflächeneigenschaften der Blockadesubstanz, als von den Tuscheartikeln selbst abhängig ist. Die Phagocytose der Gelatine durch die Kupffer'schen Sternzellen konnte bereits nachgewiesen werden (SEAMAN u. MURRAY).

Um zu sehen, wie sich Tusche und Gelatine getrennt injiziert auf die Reaktionsfähigkeit des leukopoetischen Systems auswirken, wurden diese Substanzen in den Konzentrationen der verwendeten Blockadesubstanz jeweils einzeln injiziert. Eine 8 Stunden später durchgeführte Knochenmarksfunktionsprobe bewirkte nach alleiniger Tuscheinjektion bei allen Tieren eine Leukocytenausschwemmung, während die Pyrifergabe nach Gelatineinjektion lediglich bei zwei Ratten eine über die Ausgangswerte hinausgehende Leukocytenausschwemmung hervorrufen konnte. Die restlichen drei Ratten reagierten nicht auf den Pyriferreiz. Eine wirksame Funktionsbeeinträchtigung des RES ist jedoch nur durch die Kombination von Kolloid und stabilisierendem Agens zu erzielen. Dabei dürfte die Oberflächenvergrößerung dieser stabilen und homogenen Blockadesubstanz möglicherweise eine wesentliche Rolle spielen. Doch muß erwähnt werden, daß Koenig und Murray in ihren Versuchen eine 6 %ige salzfreie Spezialgelatinezubereitung gebrauchten, während wir mit Plasmagel, einer 3 %igen Gelatine mit Na-, Ca- und Chlorid-Ionen-Zusatz, stabilisierten.

Wie klinische und tierexperimentelle Erfahrungen immer wieder zeigen, scheinen verschiedene Tumoren in bestimmten Organen vorwiegend oder ausschließlich zu metastasieren. Zur Deutung dieser Organprädispositionen, wie sie selbst bei gleichen Zellgrößen und Metastasierungswegen des Tumors beobachtet werden, reichen rein mechanische und hämodynamische Metastasierungstheorien nicht mehr aus. Darüber hinaus ist der tierische wie auch der menschliche Organismus

durchaus in der Lage, in begrenztem Maße sich mit Tumorzellen und dem Tumorstadium auseinanderzusetzen, und selbst die Vernichtung von Krebszellen scheint nicht die Ausnahme darzustellen. Diese Erkenntnisse führten zu biochemischen Metastasierungstheorien, die durch zahlreiche experimentelle Untersuchungen wahrscheinlich gemacht werden konnten. Von Einfluß sind dabei die allgemeine Abwehrlage des Organismus, eine Organdisposition im Sinne einer "funktionellen Filterwirkung" (SOOST) und die Zahl der anwesenden Tumorzellen.

Als Substrate dieser Tumoralabwehr werden sowohl allgemeine körpereigene Abwehrmechanismen wie auch organspezifische Abwehrkräfte und Milieufaktoren diskutiert.

STRÄULI konnte zeigen, daß bei hämatogener Aussaat bereits die im perivaskulären Raum herrschenden Faktoren das Wachstum einer am Endothel haften gebliebenen Geschwulstzelle in hemmender oder fördernder Weise beeinflussen können. In einer großen Zahl von Experimenten mit Impftumoren haben sich SCHMÄHL u. Mitarb. (1955, 1958, 1962, 1964) mit diesen Problemen befaßt. Dabei konnten sie durch Schädigung körpereigener Abwehrfunktionen und Veränderungen des Mutterbodens im Wirtsorganismus ein vermehrtes Tumorstadium feststellen. Unter anderem ließ sich nach Röntgen-Ganzkörperbestrahlung (640r) von Ratten die Metastasenhäufigkeit des Yoshida-Sarkoms in der Leber von 10 % auf 91 % steigern (SCHMÄHL und STUTZ).

Schmähl selbst deutet diesen Befund eher als Schwächung körpereigener Abwehrkräfte, organotypisch oder als Funktion des Gesamtorganismus denn als Folge organeigener Abwehrfunktionen, da erstere nachweislich durch Röntgenstrahlen geschädigt werden.

Nach den zu Beginn dieser Arbeit aufgeführten Funktionen des RES im Rahmen der Abwehr exogener und endogener Reize ist es daher durchaus berechtigt, auch einen Teil jener Funktionen der Tumoralabwehr in diesem System zu suchen

(Tumor-A.K.-Bildung, Phagocytosefähigkeit). Im Rahmen dieser Überlegungen müßte der Funktionszustand des RES in die Dynamik des Tumorwachstums eingehen und eine Blockade dieses Systems zur Malignitätssteigerung führen.

Auf die Bedeutung und wesentliche Rolle des RES im Rahmen der Tumorabwehr weisen viele Autoren hin (KREML, HÖPKE, OTTE, HACKMANN, SZABADI).

In dieser Hinsicht interessant sind die Ergebnisse von BAILLIF und NODA. Baillif unterwarf RE-Gewebe den Stimulationseffekten von Thorotrast und Zellen des Ehrlich-Ca. Dabei zeigte sich, daß die histocytologischen Reaktionen des RES auf beide, Thorotrast und Ehrlich Ca-Zellen, einander ähnelten. Ganz ähnlich konnte Noda eine starke retikuläre Reaktion auf transplantierte Tumorzellen nachweisen (Milzschwellung, erhöhte Radiogold-Speicherung, Vermehrung der γ -Globuline und histologische Hypertrophie und Hyperplasie der Milzpulpa mit gesteigerter histio-plasmocytärer Zelldichte). Hatte das Milzhomogeniat 8 Tage alter Tumortiere starke Hemmwirkung auf frisches s.c. Tumorwachstum, so fehlte diese nach RES-Blockade völlig.

Szabadi beobachtete nach Stimulierung der RES-Tätigkeit durch Histamin-Iontophorese reichliche Eiweißspeicherung in den Histiocyten und Makrophagen der Tumorumgebung bis zur völligen Resorption des arteigenen Tumors. Gleiche Tumorzellzerstörende Kräfte ließen sich bei heterologen Tumortransplantationen bereits ohne vorherige Aktivitätssteigerung nachweisen. Doch zeigte sich nach lokaler oder allgemeiner RES-Blockade ein langsames Tumorwachstum.

KRAUL sieht in der Fähigkeit des RES zur Antikörper-Bildung die primäre Rolle bei der Krebsabwehr und weist (ohne Quellenangabe) auf Lumsden hin, der beim Mäusekarzinom und Jensen-Sarkom A.K. nachweisen konnte.

Im Rahmen dieser Überlegungen wurden bei vier Versuchsgruppen, in Nachahmung des haematogenen Metastasierungsweges, Tumorzellen des Yoshida-Ascites-Sarkoms in die Schwanzvene injiziert. Drei dieser Gruppen erhielten zu verschiedenen Zeiten

ein- (Bild 5) bzw. mehrmalige Blockadesubstanzinjektionen, deren Wirkung und Wesen im zweiten Teil dieser Arbeit besprochen wurden.

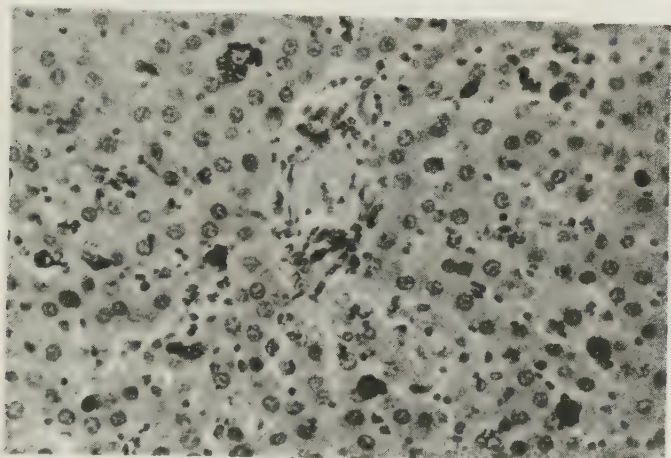


Bild 5: Leber

3/4 fache Vergr.

Ein Unterschied in der Angehrate ließ sich bei der Transplantation von 1×10^5 Tumorzellen bei keiner der vier Gruppen nachweisen, da erstere bei der unbehandelten Kontrollgruppe bereits 100 % betrug. Darüber hinaus liegen die durchschnittlichen Frischgewichte von Leber und Milz bei einer geringgradigen Erhöhung in Versuch 23 und Versuch 25 im Normbereich, während die Farben dieser beiden Organe, bedingt durch die phagocytierte Tusche, von rotbraun bis tief schwarz in den einzelnen Gruppen je nach injizierter Tuschemenge variieren.

Eine Gegenüberstellung der nicht blockierten (Vers. 22) und der blockierten (Vers. 23) Gruppe, welcher die Tumorzellen 8 Stunden nach Blockadesubstanzgabe, d.h. zur Zeit

der absoluten refraktären Phase des leukopoetischen Systems, transplantiert wurden, bringt folgende Unterschiede (s. Tab.3): Die Überlebenszeit betrug bei der nicht blockierten Gruppe durchschnittlich 23,6 Tage = 100 % und bei der blockierten Gruppe 19,5 Tage = 82,63 %. Bei der statistischen Ausrechnung ergab sich keine Signifikanz (Tab. 4).

Tabelle: 4

	I. Versuchsreihe Vers. 23 (blockiert)	II. Versuchsreihe Vers. 22 (nicht blockiert)
M	19,5	23,6
relative Streubreite	9,173 %	13,08 %
mittlerer Fehler	0,6761	1,309

Tabelle 4a: Berechnung der Mittelwerte, der relativen Streubreiten und des mittleren Fehlers der Überlebenszeit blockierter und nicht blockierter Tiere.

Signifikanz

M_1	19,5	M_2	23,6
Z	1,003	Freiheitsgrade	12
$p = 0,15$			

Tabelle 4b: Vergleich der Mittelwerte der Überlebenszeiten blockierter und nicht blockierter Tiere.

Der Unterschied der Gesamtmetastasenzahl ist ebenfalls nur sehr gering ($z = 1,003$) und über eine unterschiedliche Metastasenhäufigkeit in den einzelnen Organen läßt sich auf Grund der geringen Tierzahl keine Aussage machen.

Auffälliger wird der Unterschied bei der Beurteilung des

durchschnittlichen Körpergewichtes. Bei der nicht blockierten Kontrollgruppe kommt es vom 1. - 9. Tag zu einer Gewichtszunahme, vom 9. - 15. Tag zu einer Abnahme und ab 15. Tag bis etwa 1 Woche vor dem Tode zu einer erneuten Gewichtszunahme, während die anfängliche Gewichtszunahme in der zweiten (blockierten) Gruppe bis zum 14. Tag andauert, jedoch von da an ein ständiger Gewichtsverlust bis zum Tode der Ratten zu beobachten ist.

In ihren Reaktionen auf die Tumorzelltransplantation zwischen den Gruppen 22 und 23 liegen jene Ratten, welche die Blockadesubstanz erst 24 Stunden später injiziert bekamen (Vers. 25). Bei ihnen liegt die Überlebenszeit bei 21 Tagen = 88,98 % und auch sie zeigten keine erneute Gewichtszunahme, nachdem die Tumorkachexie eingesetzt hatte.

Die Tumorzellgabe bei im Abstand von 48 Stunden dreimal wiederholter Blockadesubstanzinjektion (Vers. 24) bewirkt keinerlei Verkürzung der Überlebenszeit, was ein Zeichen dafür sein könnte, daß hierbei der reaktiv stimulierende Einfluß gleich dem blockierenden ist. Doch setzt bei dieser Gruppe die Tumorkachexie erst nach 17 Tagen ein.

Die Zahlen und Unterschiede der Tiere in den einzelnen Gruppen sind jedoch zu gering, als daß sie eine statistische Auswertung zuließen.

Damit ist im Rahmen unserer Versuchsanordnung ein Einfluß des Funktionszustandes des RES auf das Tumorstadium statistisch nicht zu belegen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß das RES ein "hyperaktives System" darstellt und durch die einmalige Injektion der Blockadesubstanz lediglich eine Funktionsbeeinträchtigung von weniger als 48 Stunden erreicht wurde. Außerdem stellt das Yoshida-Sarkom einen der bösartigsten Tumoren dar, die wir bei Ratten kennen, so daß auch aus diesem Grund allzu große Differenzen nicht zu erwarten sind.

Solange keine Verlängerung dieser Zeit in Form einer Dauerblockade erzielt werden kann, und nach unseren Untersuchungen

scheint das zumindest für die Blockade durch in Gelatine stabilisierte Tusche unmöglich zu sein, ist diese Methode für Experimente, welche zum Ziel haben, die Einflußnahme einer RES-Blockade auf das Tumorstadium zu untersuchen, unzureichend.

Die Organprädispositionen der Metastasen (Bild 6, 7 und 8) entsprechen im wesentlichen den von SCHMÄHL und RIESEBERG angegebenen Lokalisationen.

Gehirn, Leber, Milz und Harnblase waren stets frei von Metastasen, obgleich SCHMÄHL und STUTZ vereinzelt Lebermetastasen finden konnten. Auch die Muskulatur schien bislang, mit Ausnahme des Herzmuskels, im Metastasenspektrum des Yoshida-Sarkoms ausgespart zu sein. Doch konnten wir makroskopisch wie auch histologisch in mehreren Fällen Metastasen innerhalb der Skelettmuskulatur nachweisen (Bild 9, 10, 11 und 12).

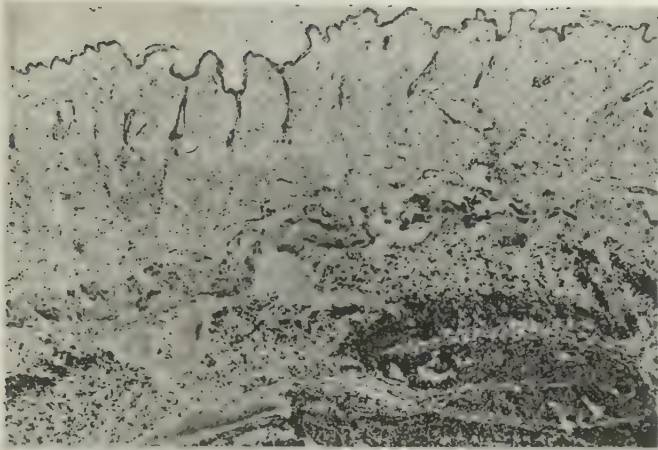


Bild 6:
Subcutismetastase
35 fache Vergr.

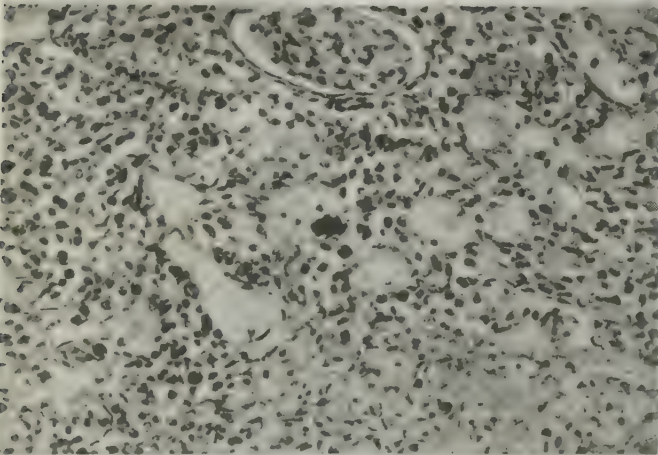


Bild 7:
Nierenmetastase
384 fache Vergr.

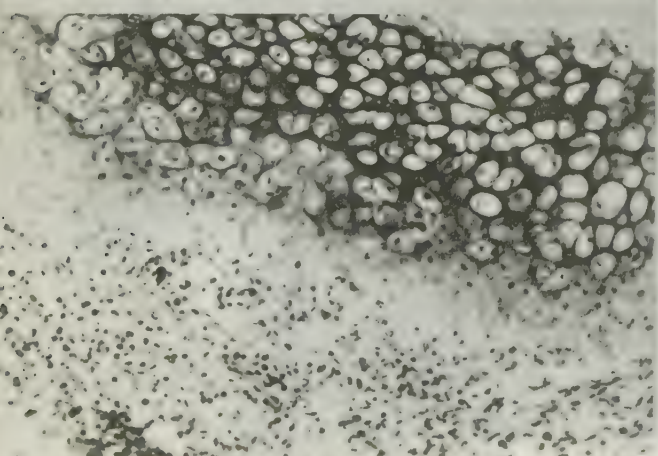


Bild 8:
Knorpelmetastase
224 fache Vergr.

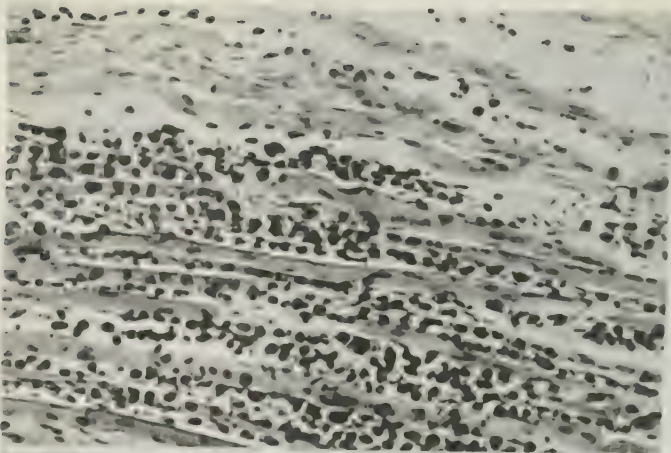


Bild 9:
Muskelmetastase
224 fache Vergr.

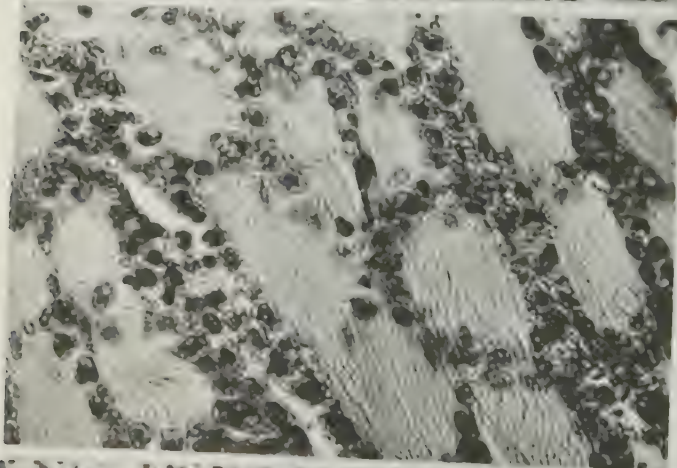


Bild 10:
Muskelmetastase
560 fache Vergr.

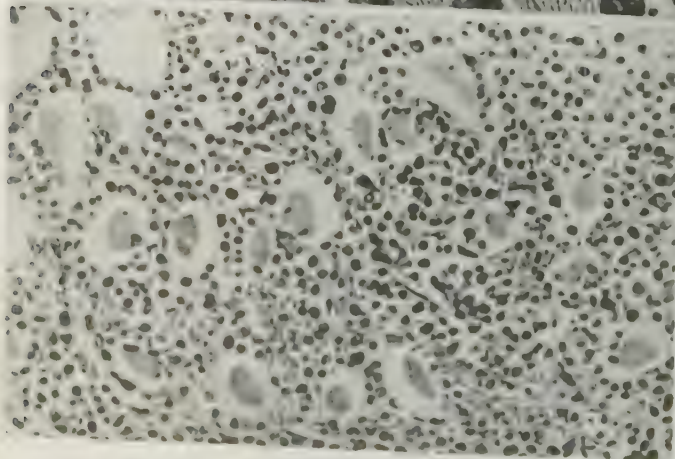


Bild 11:
Bauchdecke
224 fache Vergr.

Glaubten wir zuerst an ein von einer Knochenmetastase ausgehendes infiltratives Wachstum, so ergaben makroskopische und mikroskopische Befunde doch isolierte Muskelmetastasen. Schon makroskopisch waren in einigen Fällen allseits von Muskelfascie umgebene Tumormassen zu erkennen, die sich ohne weiteres im gesamten Muskelpaket vom Knochen ablösen ließen. Von insgesamt 14 Metastasen, die sich histologisch gesichert zwischen den Muskelfasern fanden, ließ sich in 10 Fällen keine gleichzeitig bestehende Knochen- oder Knochen-Knorpel-metastase nachweisen. Darüber hinaus fanden sich auch bei 2 Tieren Tochtergeschwülste in der Bauchdeckenmuskulatur (Bild 11), die mit Sicherheit nicht von einem Knochen oder der Knochen-Knorpelgrenze ausgehen konnten. Bild 12 zeigt in einer mikroskopischen Aufnahme, daß Tumorgewebe des Thymus in engster Nachbarschaft zu Muskelgewebe nicht zu einer Infiltration in sie hinein führte, so daß es sich hier um echte Muskelmetastasen handelt.

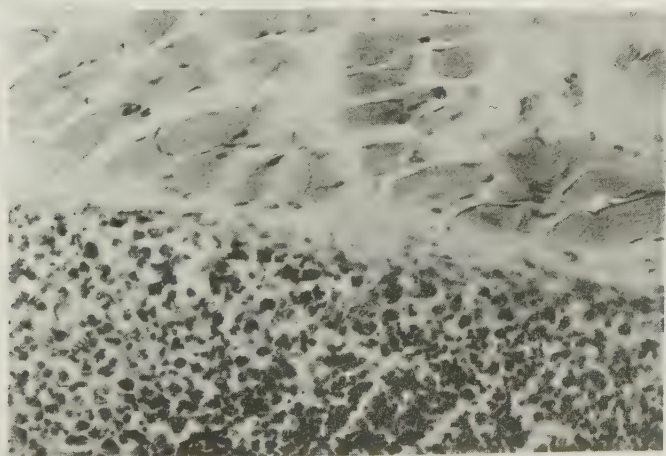


Bild 12: Thymusmetastase

320 fache Vergr.

Wie SCHMÄHL (1959) zeigen konnte, beeinflussen niedrige Tumorzellzahlen die Häufigkeit, jedoch nicht die Lokalisation einzelner Metastasen. So können verschiedene Tumorzellzahlen, eine unterschiedliche Anzahl ausgewerteter Fälle und die Tatsache, ob nur makroskopische Metastasenbefunde gewertet oder auch histologische Kontrollen gemacht wurden, die manchmal unterschiedlichen Angaben der prozentualen Organverteilung erklären. Eine Zusammenstellung unserer Ergebnisse und der Angaben anderer Autoren bringt Tab. 5.

Tabelle: 5

Metastasenlokalisierung nach intravenöser Transplantation von 1×10^5 Tumorzellen. Von 7 Tieren (= 100 %) ausgehend, wurde die Metastasenhäufigkeit in den einzelnen Organen in % errechnet und den in der Literatur zugänglichen Zahlen gegenübergestellt (Tabelle 5).

	Vers. 22 nicht blockiert %	Vers. 23 blockiert %	Schmähl u. Mitarb. (1958, 1962, 1965) %	Marquardt %
Metastasen:				
Subcutis	57	29	5	
Mesenterium	43	29	47	50
Darm	29	0	23	
Ovar	14	43	5	
Niere	43	14	32	39
Nebenniere	43	43	86	67
Lymphdrüsen	57	86	73	61
Thymus	14	71	23	
Mediastinum	0	29	23	
Lunge	14	43	32	50
Herz	0	0	5	
Knochen, Knorpel	57	29	23	
Muskulatur ges.	57	57		
ohne Knochenm.	29	57		
Leber	0	0	10	

Tabelle 5

Gehirn, Milz und Blase waren stets frei von Metastasen.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Nach einem kurzen Abriß der Struktur und Funktion des RES werden den Möglichkeiten und Nachweismethoden der retikulo-endothelialen Blockade aufgezeigt.

Die eigenen Untersuchungen an Ratten befassen sich in zwei Versuchsserien mit methodischen Problemen der RES-Blockade und prüfen in einer dritten Versuchsserie deren Einfluß auf die haematogene Metastasierung des Yoshida-Ascites-Sarkoms.

Dabei kommen wir zu dem Ergebnis, daß eine alleinige Tuscheinjektion nicht zu einer Funktionsminderung, sondern im Gegenteil zu einer Stimulierung der RE-Elemente führt. Die depressiven Wirkungen bei höchster Tuschedosierung sind toxische Effekte.

Kommt jedoch in Gelatine stabilisierte Tuschelösung zur Anwendung, so läßt sich für kurze Zeit eine Blockadewirkung erzielen, ohne daß die Tiere merklich in ihrem Allgemeinbefinden gestört sind.

Von der Überlegung ausgehend, daß die leukopoetische Reaktion, auf einen Pyriferreiz hin mit einer Leukocytenausschwemmung zu reagieren (Moeschlin-Test), u.a. ein nicht beeinträchtigtes RES zur Voraussetzung hat, werden Leukocytenkurven aufgestellt, die Genaueres über den Grad und die Dauer der Blockade aussagen.

Auf Grund unserer Methodik erscheint eine vollständige Blockade nur sehr schwer erreichbar und eine Dauerblockade unmöglich, so daß es wohl richtiger ist, von einer temporären Funktionsminderung des RES zu sprechen.

Die Wirkung der so erzielten Funktionsbeeinträchtigung des RES auf das Tumorstadium konnte statistisch nicht belegt werden. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Blockade nach spätestens 48 Stunden wieder völlig aufgehoben war und es sich bei dem verwendeten Yoshida-Sarkom der Ratte um eine sehr maligne Tumorform handelt.

Die Ergebnisse werden jeweils am Schluß eines Kapitels zusammengefaßt und, soweit es für den Fortgang der Arbeit notwendig ist, dort besprochen.

In einer abschließenden Diskussion werden die Ergebnisse zu dem zugängigen Schrifttum in Beziehung gesetzt und einer kritischen Betrachtung unterzogen.

IX. LITERATUR

- ASCHOFF, L.: Das reticulo-endotheliale System. *Ergeb. inn. Med. u. Kinderheilk.* 26, 1 (1924).
- BAGINSKI, S.: Die Histo-Physiologie des RES. II. Mitteilung: Histologische Untersuchungen über die Blockade des reticulo-endothelialen Systems. *Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikroskop. Anat.* 28, 382 (1938).
- BAILLIF, R.N.: Reaction patterns of the reticulo-endothelial system under stimulation. *Ann. of the N.Y. Acad. of Scienc.* 88, 3 (1960).
- BAKER, W.H.: Spontaneous regression of malignant melanoma. *Amer. Surg.* 30, 825 (1964).
- BARFUSS, F. u. O. EICHLER: Periston bei wiederholter Darreichung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* 206, 346 (1949).
- BARROW, J., J.L. TULLIS and F.W. CHAMBERS Jr.: Effect of radiation and antihistamine drugs on the reticulo-endothelial system measured with colloidal radiogold. *Am. J. Physiol.* 164, 822 (1951).
- BEER, L.: Über die nervös-humurale Regulation des Blutes. *Folia hämat. (Frankfurt/M.)* 66, 222 (1942).
- BEINKE, M.: Über den Einfluß von Plasmaexpandern auf die Adsorption radio-aktiven Fremdalbumins durch die Leber. *Inaug. Diss. Marburg* 1967.
- BENACERRAF, B., B.N. HALPERN, G. BIOZZI and S.A. BENOS: Quantitative study of the granulopoetic activity of the reticulo-endothelial system. III. The effect of cortisone and nitrogen mustard on the regenerative capacity of the RES after saturation with carbon. *Brit. J. Exp. Path.* 35, 97 (1954).
- and BIOZZI, G.: Physiology of phagocytosis of particles by the r.e.s. *Physiopathology of the r.e.s.* 52, (1957).
- BIOZZI, G., B. BENACERRAF and B.N. HALPERN: Quantitative study of the granulopoetic activity of the r.e.s.. II. A study of the kinetics of the granulopoetic activity of the r.e.s. in relation to the dose of carbon injected. Relationship of the weight of the organs and their activity. *Brit. J. Exp. Path.* 34, 441 (1953).
- B.N. HALPERN, B. BENACERRAF and C. STIFFEL: Phagocytic activity of the reticulo-endothelial system in experimental infections. *Physiopathology of the r.e.s.* Blackwell Scientific Publications 52, 204 (1957).

- BOEHME, D. and R.J. DUBOS: The effect of bacterial constituents on the resistance of mice to infection and on the heterologous activity of their reticulo-endothelial system. *J. Exp. Med.* 107, 523 (1958).
- BORKENSTEIN, E.: Untersuchungen über die cytopoetische Funktion des Knochenmarkes bei normalen peripheren Leukocytenzahlen, *Wien. med. Wschr.* 202, 116 (1952).
- BORST, M.: Die Lehre von den Geschwülsten. Wiesbaden 1902.
- Allgemeine Pathologie der malignen Geschwülste. Leipzig 1924.
- BURRI, C. u. M. ALLGÖWER: Die Wirkung verbrannter, steriler Haut auf normale und RES-blockierte Mäuse. *Zeitschr. ges. exp. Med.* 138, 378 (1964).
- Zur Funktion des RES nach Plasmaexpandern. *Helv. chir. Acta* 6, 533 (1964).
- CAZAL, P.: Les réticulopathies et le système reticulohistocytaire. Paris, Vigot Frères (1942).
- DERBY, B.M. and D.E. ROGERS: Studies on bacteriemia. V. The effect of simultaneous leukopenia and reticulo-endothelial blockade on the early blood stream clearance of staphylococci and Escherichia coli. *J. Exp. Med.* 113, 1053 (1961).
- DERRA, E.: Spontanregression und Wachstumsverlangsamung von histologisch erwiesenen malignen Tumoren ohne oder ohne ausreichende kausale Therapie. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* 311, 89 (1965).
- DOMAGK, G.: Die Bedeutung körpereigener Abwehrkräfte für die Ansiedlung von Geschwulstzellen. *Zeitschr. Krebsforsch.* 56, 247 (1949).
- Welche Erkenntnisse über den Krebs vermittelt uns die experimentelle Krebsforschung? *Münch. Med. Wschr.* 94, 184 (1952).
- DRUCKREY, H.: Die Grundprobleme der Krebsentstehung und des Krebswachstums. *Neue med. Welt* 49, 1613 (1950).
- K. KÜPFMÜLLER u. W. TRAPPE: Experimentelle Beiträge zum Wachstumsproblem bei Geschwülsten und Metastasen. *Zeitschr. Krebsforsch.* 56, 407 (1949).
 - u. D. SCHMÄHL: Cytolysierende Wirkung von Extrakten aus normalen Geweben auf verschiedene Tumoren der Ratte. *Zeitschr. Krebsforsch.* 63, 28 (1959).
- EBERHARDT, K.: Knochenfunktionsprüfung bei Gabe von Periston und Seretin, verglichen mit Kochsalzlösung und Tusche. *Inaug. Diss. Marburg* 1966.
- EULER, B.v. u. H. v. EULER: Über die in wachsenden und in retrograden Rattentumoren wirksamen Faktoren. *Zeitschr. Krebsforsch.* 57, 501 (1951).

- u. H. HASSELQUIST: Untersuchungen am Yoshida-Ascites-Sarkom der Ratte. Arkiv för kemi (Stockholm) 7, 257 (1954).
- EVERSON, T.C.: Spontaneous regression of cancer. Ann. of the N.Y. Acad. of Scienc. 114, 721 (1964).
- FERRATA, A., E. STORTI: Le malattie del sangue. Milano 1946.
- FRESEN, O.: Zur Histomorphologie des Reticuloendothelialen Systems. Klin. Wschr. 100, 24 (1946).
- Die Pathomorphologie des Retothelialen Systems. Verh. dtsh. Ges. Path. 1954.
- FRIMMER, M.: Über das Verhalten der reticulo-endothelialen Clearance nach Infusion kolloidaler Blutersatzflüssigkeiten. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 217, 91 (1953).
- FROMME, A.: Keimblatt-Theorie, Krebsentstehung und Behandlungsmöglichkeit. Zentralbl. Chir. Heft 12a, 1418 (1947).
- Die Lakersche Keimblatt-Theorie der Krebsentstehung und die übrigen Krebstheorien. Geschw. Forsch. 1, 1 (1949).
- Gibt es eine Abwehr gegen die Entstehung des Karzinoms? Arch. Geschwulstforsch. 4, 329 (1952).
- Die klinische Bedeutung einer Blockierung des RES und die Möglichkeit einer therapeutischen Anwendung. Sitzungsber. Vereinigung Nordwestdeutscher Chirurgen (Göteborg) in: Zbl. Chir. 85, 179 (1960).
- GABRIELI, E.R. and H. HOLMGREN: Studies in the blockade of the reticulo-endothelial system. Acta Pathol. et Microbiol. Scand. 31, 204 (1952).
- GAËTANI, G.F. u. E. BLOTHNER: Ein Beitrag zur Frage der Geschwulsttransplantation mit ausgezählten Zellmaterial. Zeitschr. Krebsforsch. 44, 108 (1936).
- GROSS, R. u. H.E. BOCK: Erkrankungen der Leukopoese und des Retikulo-Histiozytären Systems. Klinik der Gegenwart 10, 567 (1960).
- HACKMANN, CH.: Über die Bedeutung exogener und endogener Allgemeininfaktoren für das Wachstum maligner Geschwülste. Dtsch. med. Wschr. 83, 134 (1953).
- HALPERN, B.N. and G. BIOZZI: Etude quantitative de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial par l'injection intraveineuse, d'encre de chine chez les diverses espèces animales. Ann. Inst. Pasteur, Paris, 80, 582 (1951).
- HAMPERL, H.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie u. der pathologischen Anatomie. Springer-Verlag (Berlin, Göttingen, Heidelberg). 166 (1960).
- HOEPKE, H.: Über biologische Krebs-Therapie. Dtsch. med. J. 6, 15 (1955).

- HOPPS, H.: India ink and r.e.s. blockade. Arch. Path. (Chicago) 74, 285 (1962).
- JELIN, W., O. ROSENBLATT u. S. BRINN: Über den Einfluß der Immunisierungsmethodik blockierter Kaninchen auf die Bildung von Antikörpern. Zeitschr. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie 65, 440 (1930).
- JENKIN, C.R. and D. ROWLEY: The role of opsonins in the clearance of living and inert particles by cells of the reticulo-endothelial system. J. Exp. Med. 114, 363 (1961).
- JUNKMANN, K.: Einiges über Impftumoren. Arch. exp. Path. Pharmacol. 205, 276 (1948).
- KARRER, K.: Ergebnisse der intravenösen Implantation von Impftumoren. Wiener klin. Wschr. 69, 205 (1957).
- Experimentelle Studien zum Problem der Tumormetastasierung. Klin. Med. (Wien) 20, 313 (1965).
- KIRMESS, W.: Knochenmarksfunktionsprüfungen nach Moeschlin an Ratten unter der Einwirkung von Endoxan und Macro-dex. Inaug. Diss. Marburg 1964.
- KLEIN, G. and E. KLEIN: The nucleic acid content and the growth rate of mouse ascites tumor cells. Acta Unio internat. contra Cancrum 7, 376 (1951).
- KOENIG, M.G., R.M. HEYSSEL, M.A. MELLY and D.E. ROGERS: The dynamics of Reticuloendothelial Blockade. J. Exp. Med. 122, 117 (1965).
- KÖHNE, E.: Nachweis intravenös injizierter Tumorzellen des Walker-Carcinosarkoms im Blut und in den Organen von Ratten. Inaug. Diss. München 1962.
- KRAUL, M.A.: Über die Rolle des retikulo-endothelialen Systems beim Krebswachstum. Zeitschr. inn. Med. 12, 452 (1957).
- KRESTOW, M.: Über den Einfluß von Milzextirpation und Milztransplantation auf die Leukocytenbewegung. Inaug. Diss. Heidelberg 1959.
- KRISCHKE, W.: Beeinflussung der Metastasenbildung nach intravenöser Injektion von Tumorscitezellen bei der Maus durch zusätzliche Behandlung. Acta biol. med. Germanica 4, 39 (1960).
- LEDoux, L.: Action of Ribonuclease on Certain Ascites Tumours. Nature (London) 175, 258 (1955).
- LETTRÉ, H.: Das Yoshida-Sarkom der Ratte. (Nach Arbeiten von T. Yoshida). Zeitschr. Krebsforsch. 59, 287 (1953).
- LIDGAS, E.: Über das Problem der haematogenen Metastasierung beim Karzinom. Arch. Geschwulstforsch. 4, 339 (1952).

- LINKE, A. u. L. SCHRICKER: Die Bedeutung der Leber und Milz für die neurohumorale Regulation der Leukocyten. 5. Kongr. Europ. Ges. Hämat., Freiburg 1955. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- RANSBEK u. SCHRICKER: Die Antwort des normalen und pathologischen Knochenmarks auf unspezifische Reize. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 62. Kongr. 1956.
- MARQUARDT, H.: Experimentelle Untersuchungen über den cytologischen Nachweis von Tumorzellen im strömenden Blut und in den Organen von Ratten. Inaug. Diss. München 1962.
- MARTIN, S.P., G.P. KERBY and B.C. HOLLAND: The effect of thorotrast on the removal of bacteria in the splanchnic area of the intact animal. J. Immunol. 68, 293 (1952).
- METSCHNIKOFF, E.: L'inflammation. Paris 1892.
- MOESCHLIN, S.: Die Leukozytenkurve nach Pyrufer als Knochenmarksfunktionsprüfung. Helv. med. Acta 12, 229 (1945).
- Ausreifungszeit, Mitosedauer und täglicher Umsatz der granulierten Leukozyten. Schweiz. med. Wschr. 76, 1051 (1946).
- MOORE, G.E.: Wert und Bedeutung des Tumorzellnachweises im strömenden Blut. Praxis 52, 1343 (1963), Schweiz.
- MURRAY, I.M.: The mechanism of blockade of the reticulo-endothelial system. J. Exp. Med. 117, 139 (1963a).
- Clearance rate in relation to agglutinins for gelatin-stabilized colloid in the rat. Am. J. Physiol. 204, 655 (1963b).
- and M. KATZ: Factors affecting the rate of removal of gelatin-stabilized radiogold colloid from the blood: I. The retardation of the radiogold disappearance rate by gelatin. J. Lab. and Clin. Med. 46, 263 (1955).
- NÉMETH, L., K. LAPIS u. E. BIHARI: Die Beeinflussung der Metastasenbildung von Guerin-Rattenkarzinom durch Strahlen- und Chemotherapie. Strahlentherapie 108, 317 (1959).
- NODA, A.: An experimental study on the role of the reticulo-endothelial system in host resistance against tumor with special reference to the spleen. Arch. jap. Chir. 32, 69 (1963).
- OTTE, G.: Versuche zum Nachweis von Zellen des Yoshida-Sarkoms im strömenden Blut von Ratten. Inaug. Diss. München 1962.
- ROGERS, D.E.: Studies on bacteriemia. I. Mechanisms relating to the persistence of bacteriemia in rabbits following the intravenous injektion of staphylococci. J. Exp. Med. 103, 713 (1956).

- Host mechanisms which act to remove bacteria from the blood stream. Bact. Rev. 24, 50 (1960).
 - and M. A. MELLY: Studies on bacteriemia. III. The blood stream clearance of Escherichia coli in rabbits. J. Exp. Med. 105, 113 (1957).
- ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. Stuttgart 1960.
- SCHMÄHL, D.: Krebsmetastasen: Ihre Entstehung und Prophylaxe. Med. Welt 40, 1847 (1959).
- Der Einfluß von Ovarial-Hormonen auf die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms. Naturwiss. 47, 138 (1960).
 - Experimentelle Untersuchungen über den Mechanismus der hämatogenen Metastasierung beim Krebs. Dtsch. med. Wochr. 86, 607 (1961).
 - Die Metastasierung der Tumoren und ihre Beeinflussung. Med. Welt I, 544 (1964).
 - u. R. MECKE: Quantitative Transplantationsversuche mit dem Yoshida-Ascites Sarkom der Ratte. Zeitschr. Krebsforsch. 60, 711 (1955).
 - u. TH. RIESEBERG: Experimentelle Untersuchungen an Ratten über die Metastasierung von Tumoren. Zeitschr. Krebsforsch. 62, 456 (1958).
 - u. E. STUTZ: Abhängigkeit der Tumorentwicklung bei Ratten nach intravenöser Injektion des Yoshida Ascites-Sarkoms von vorausgegangener Röntgen-Ganzkörperbestrahlung. Naturwiss. 49, 424 (1962).
 - u. W. KRISCHKE: Experimentelle Untersuchungen an Ratten zum Mechanismus der Metastasierung. Zeitschr. Krebsforsch. 65, 289 (1963).
 - u. W. SATTLER: Der Einfluß der Vorbehandlung von Ratten mit alkylierenden Substanzen und anderen Giften auf das Wachstum des Yoshida-Sarkoms. Arzneimittelforsch. 14, 746 (1964).
 - H. OSWALD u. C. THOMAS: Experimentelle Untersuchungen über die Metastasierung des Yoshida-Sarkoms. Zeitschr. Krebsforsch. 67, 141 (1965).
- SCHMIDT, M.B.: Die Verbreitungswege der Karzinome und die Beziehung generalisierter Sarkome zu den leukämischen Neubildungen. G. Fischer, Jena 1903.
- SEAMAN, A.R. and I.M. MURRAY: Observations on the reticuloendothelial elements of the liver and spleen of the rat following injections of gelatin-stabilized gold colloid. Acta Haemat. 17, 43 (1957).
- SIEGMUND, H.: Reticuloendothel und aktives Mesenchym. Urban und Schwarzenberg (Berlin, Wien) 1927.

- SOOST, H.-J.: Experimentelle Untersuchungen über das Schicksal der im Blut kreisenden Tumorzellen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 22, 1065 (1962).
- STANDENATH, F.: Bemerkungen zu dem Aufsatz von Prof. W. Jelin, O. Rosenblatt und S. Brinn: "Beiträge zum Studium der Beeinflussung der Antikörpererzeugung durch Blockade des reticulo-endothelialen Systems". Zeitschr. Immunitätsforsch. 61, 509 (1929).
- STRÄULI, P.: Bedingungen der Entwicklung und Implantation der metastatischen Tumorzellen. (Symposium) Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 20, 75 (1964).
- STREICHER, H.-J.: Experimentelle Splenektomie in ihrer Wirkung auf Erythrocytenregeneration, Leukocytenregulation und Blutungsschock. Langenbecks Arch. klin. Chir. 293, 245 (1960).
- u. P.H. SCHMIDT.: Die Knochenmarksfunktionsprüfung unter besonderer Berücksichtigung der Milzextirpation. Klin. Wschr. 40, 667 (1962).
 - K. EBERHARDT u. W. KIRMESS: Hemmen Plasmaexpander die Leukocytenausschwemmung aus dem Knochenmark? Langenbecks Arch. klin. Chir. 311, 252 (1965).
- SZABADI, L.: Über die Rolle des reticulo-endothelialen Systems in der Abwehr gegen Tumoren. Oncologia 13, 47 (1960).
- WAGNER, H.N. JR. and M. IIO: Studies of the reticulo-endothelial system (RES). III. Blockade of the RES in man. J. Clin. Inv. 43, 1525 (1964).
- WALTHER, H.E.: Krebsmetastasen. Benno Schwabe & Co., Basel, 1948.
- WITTE, G.: Bedeutung der Zellzahl bei der Verimpfung des Adenocarcinoms der Maus. Dtsch. Zeitschr. Chir. 245, 251 (1935).
- ZSCHIESCHE, W., S. GHATAK, H. GRIMM u. V. BÖCKEL: Serumproteine und reticulohistiocytäres System bei Inzuchtmäusen. Zeitschr. ges. exp. Med. 140, 14 (1966).

Herrn Prof. Dr. Streicher danke ich für die Überlassung des Themas, seine stetige Unterstützung und freundliche Beratung bei der Entstehung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 24.8.1940 wurde ich, Peter Fröhnmorgen, als Sohn des Kaufmanns Gottfried Fröhnmorgen und seiner Ehefrau Ursula, geb. Herwig, in München geboren.

Nach einem kurzen Aufenthalt in Kassel wurden wir 1944 nach Beiseförth, Krs. Melsungen, evakuiert. Dort besuchte ich von 1948 bis 1952 die Volksschule und von 1952 bis 1961 das Gymnasium Geschwister-Scholl-Schule in Melsungen, wo ich am 28.2.1961 die Reifeprüfung ablegte. In den Jahren 1953 bis 1960 wohnten wir in Melsungen, seit 1960 in Kassel.

Im Sommersemester 1961 begann ich an der Philipps-Universität Marburg zu studieren, und zwar zunächst die Fächer Chemie, Biologie und Sozialkunde mit dem Berufsziel des Lehramts an Gymnasien. Weil es sich jedoch bald herausstellte, daß die tatsächliche Studienausbildung nicht meinen Vorstellungen von ihr entsprach, gab ich dieses Studium auf und wechselte zu Beginn des dritten Studiensemesters nach eingehender Information zur Medizinischen Fakultät über.

Nach dem Sommersemester 1964 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab und beendete im WS 1967/68 mein Studium in Marburg/L. mit der ärztlichen Prüfung.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Marburg/L.: Bechtelsheimer, Beckmann, Berendes, Bickel, Bommer, Braun-Falco, Brück, Buchholz, Bücher, Dimroth, Dittrich, Dölle, Drawert, du Mesnil de Rochemont, Exner, Gedigk, Hamm, Hensel, Herfarth, Hettler, Heuser, Hildebrandt, Jacob, Karlson, Kessel, Knauff, Korb, Lang, Linneweh, Löhr, Mahr, Mann, Martini, Marx, Mattes, Meinhof, Neubauer, Niessing, Oehmig, Petry, Petzold, Pots, Rodeck, Rohen, Sauer, Schiff, Schleyer, Schmid, Schrappe, Schultze, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg, Staib, Straub, Streicher, Strohmeyer, Voss, Walcher, Wendt und Würterle.

